

**Zytokin und Adhäsionsmolekülveränderungen im
Serum bei an Multiple Sklerose erkrankten Patienten
(RRMS und SPMS) ohne und unter Therapie mit
Interferon-beta 1a und 1b.**

PAMELA FRIELINGHAUS

**INAUGURALDISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DES GRADES EINES
DOKTORS DER MEDIZIN
DES FACHBEREICHES MEDIZIN DER
JUSTUS-LIEBIG-UNIVERSITÄT GIESSEN**

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2006

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2006

© 2006 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Wettenberg
Printed in Germany



VVB LAUFERSWEILER VERLAG
édition scientifique

GLEIBERGER WEG 4, D-35435 WETTENBERG
Tel: 06406-4413 Fax: 06406-72757
Email: VVB-IPS@T-ONLINE.DE

www.doktorverlag.de

**Zytokin und Adhäsionsmolekülveränderungen
im Serum bei an Multiple Sklerose erkrankten
Patienten (RRMS und SPMS) ohne und unter
Therapie mit Interferon-beta 1a und 1b.**

INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Pamela Frielinghaus

aus Remscheid

Gießen 2005

Aus dem Medizinischen Zentrum für Neurologie und Neurochirurgie
- Neurologische Klinik -
Leiter: Prof. Dr. med. M. Kaps
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter (Betreuer):	Prof. Dr. Oschmann
Gutachter:	Prof. Dr. Schachenmayr
Tag der Disputation:	19.12.2005

1	Einleitung	1
1.1	Die Multiple Sklerose	1
1.1.1	Epidemiologie	1
1.1.2	Ätiologie, Genetik, Migrationsstudien	2
1.1.3	Pathologie, Histologie	3
1.1.4	Klinik, Verlauf und Symptome	4
1.1.5	Prognose	9
1.1.6	Diagnostik, Diagnosekriterien	9
1.1.7	Differentialdiagnose	11
1.1.8	Therapie	12
1.1.9	Multiple Sklerose im Vergleich zum Tiermodell	15
1.1.10	Pathophysiologisches Modell	16
1.1.11	Blut-Hirn-Schranke	19
1.2	Grundlagen der gemessenen Parameter	20
1.2.1	Bedeutung der Zelladhäsionsmoleküle	20
1.2.1.1	s-ICAM-1	21
1.2.1.2	s-VCAM-1	22
1.2.2	Zytokine	22
1.2.3	Bedeutung der TNF- Rezeptor- Familie	23
1.2.3.1	s-TNF-RI, s-TNF-RII und TNF-beta	23
1.2.4	Bedeutung von s-IL4R	24
1.3	Interferone	25
1.4	Wirkung der Interferon-beta Präparate bei MS-Patienten	26
1.4.1	Interferon-beta 1b (Betaferon)	27
1.4.2	Interferon-beta 1a (Rebif)	27
1.5	Zielsetzung	29
2	Material und Methoden	30
2.1	Patienten und Studienaufbau	30
2.2	Probenmaterial	32
2.2.1	Prinzip des ELISA	33
2.2.2	Testablauf	34
3	Ergebnisse	36
3.1	Homogenitätsprüfung der zu vergleichenden Gruppen	36
3.1.1	Multiple Sklerose Patienten vs. Gesundenkollektiv	36
3.1.2	RRMS Patientengruppe versus SPMS Patientengruppe	39
3.1.3	Die drei RRMS Gruppen (Untherapiert, Rebif, Betaferon)	39
3.2	Spontaner Verlauf der RRMS	40
3.2.1	In Bezug auf den EDSS und auf die Schübe	40
3.2.2	In Bezug auf die Laborparameter	40
3.3	Verlauf der RRMS unter Interferontherapie	41
3.3.1	In Bezug auf den EDSS und auf die Schübe	41
3.3.2	In Bezug auf die Laborparameter	42
3.4	Vergleich von RRMS- mit SPMS Patienten unter Betaferon über ein Jahr	46

3.5	Verlauf der RRMS unter Betaferon über zwei Jahre	46
3.5.1	In Bezug auf den EDSS	46
3.5.2	In Bezug auf die Laborparameter	46
3.6	Schübe während des einjährigen Krankheitsverlaufes (Responder/ Nonresponder)	47
3.6.1	Schübe der drei RRMS Patientengruppen (Untherapiert, Rebif, Betaferon)	48
3.6.2	Schübe der RRMS Patienten und SPMS Patienten im ersten Jahr unter Betaferon	48
3.6.3	Schübe der RRMS Patienten unter zweijähriger Betaferontherapie	49
3.7	Einfluß der Schübe auf die Änderung des EDSS und der Laborparameter	49
3.7.1	Änderung des EDSS unter Berücksichtigung der Schübe im ersten Jahr	49
3.7.2	Änderung der Laborwerte unter Berücksichtigung der Schübe im ersten Jahr der Behandlung	49
3.8	Nebenwirkungen	50
3.8.1	Bei einjähriger Behandlung mit Betaferon	50
3.8.2	Bei zweijähriger Behandlung mit Betaferon	51
3.9	Korrelation der Laborparameter	51
3.9.1	Korrelation der Laborparameter untereinander	51
3.9.2	Korrelation der Laborparameter mit dem EDSS-Score der RRMS und der SPMS Patientengruppe	52
3.10	Logistische Regression bezüglich der Schübe, der Inzidenzen grippaler Symptome und der Responderraten	53
4	Diskussion	54
4.1	Bewertung der Methodik	54
4.1.1	Aufbau der Studie	54
4.1.2	ELISA	57
4.1.3	Statistische Auswertung	58
4.2	Unterschiede in den einzelnen Gruppen bezüglich der Messparameter	59
4.2.1	Unterschiede in der Immunparameterkonstellation zwischen Gesunden vs. MS Patienten und der spontane Verlauf der MS	59
4.2.2	Unterschiede zwischen RRMS versus SPMS	63
4.2.3	Änderung des EDSS-Scores, der Schubfrequenzen und der Immunparameter unter der Interferontherapie	63
4.2.4	Änderung einzelner Parameter unter zweijähriger Betaferontherapie der RRMS Patienten	70
4.2.5	Unterschiede zwischen Rebif und Betaferon bezüglich Nebenwirkung und Wirkung	72
4.2.6	Bewertung der immunologischen Marker als prognostischer Wert für den Therapieerfolg	75
4.3	Ausblick	77
5	Zusammenfassung / Summary (Deutsch/Englisch)	78/80
6	Literaturverzeichnis	82
7	Anhang	98
	Tabellen	98
	Protokolle zur Durchführung der ELISA, Herstellernachweis	125
	Abkürzungen	134
	Lebenslauf	136
	Danksagung	138

Abbildungen:

1.1	Weltweite Verbreitung der Multiplen Sklerose	1
1.2	Schematische Darstellung einzelner Teilschritte in der Pathophysiologie der MS	3
1.3	Schematische Darstellung der MS-Verlaufsformen	7
1.4	Zytokine der Th1- und Th2-Zellen	17
1.5	Schematische Darstellung der Pathogenese der Multiplen Sklerose	18
1.6	Transendotheliale Migration der T-Zellen durch die Blut-Hirn-Schranke	20
1.7	Strukturelle Charakteristika der Adhäsionsmoleküle	21

Tabellen:

1.1	Klinische Manifestationen der Multiplen Sklerose	6
1.2	Extended Disability Status Scale (EDSS)	8
1.3	Kriterien für die klinische Diagnose der Multiplen Sklerose nach Poser et al.	10
1.4	Kriterien für die Diagnose der Multiplen Sklerose nach McDonald et al.	11
1.5	Vergleich zwischen MS und EAE	15
1.6	Einteilung der Interferone	26
1.7	Aktuelle krankheitsmodifizierende Wirkstoffe der MS	28
2.1	Patienten die innerhalb des ersten Jahres die Studie abbrachen	31
2.2	Anzahl der Patienten mit fehlenden Vorbefunden bzw. folgenden Werten im Verlauf der gesamten Erhebung	32
3.15	Vergleich der Immunparameter unter einjähriger Interferontherapie in den drei Gruppen	42
3.26	EDSS unter zweijähriger Betaferontherapie der RRMS Patienten	46
3.28	Immunparameter unter zweijähriger Betaferontherapie der RRMS Patienten	47
3.32	Kovarianzanalyse der Prüfparameter unter Berücksichtigung von Schüben bei den RRMS Patienten: EDSS	49
3.33	Kovarianzanalyse der Prüfparameter unter Berücksichtigung von Schüben bei den RRMS Patienten: Laborwerte	49
3.34	Korrelation der Laborwerte bei den MS Patienten untereinander	51
3.35	Korrelation der Laborwerte mit dem EDSS der RRMS Patienten	52
3.36	Korrelation der Laborwerte mit dem EDSS der SPMS Patienten	52

Anhang:

3.1	Homogenitätsprüfung MS Patienten vs. gesunde Vpn. bezüglich epidemiologischer Daten	98
3.2	Homogenitätsprüfung MS Patienten vs. gesunde Vpn. bezüglich der Laborparameter	99
3.3a	Homogenitätsprüfung RRMS Patienten vs. SPMS Patienten bezüglich epidemiologischer und krankheitsspezifischer Daten Teil I	100
3.3b	Homogenitätsprüfung RRMS Patienten vs. SPMS Patienten bezüglich epidemiologischer und krankheitsspezifischer Daten Teil II	101
3.4	Homogenitätsprüfung der RRMS Patienten vs. SPMS Patienten bezüglich der Laborparameter	102
3.5a	Homogenitätsprüfung der drei RRMS Gruppen bezüglich epidemiologischer und krankheitsspezifischer Daten Teil I	103
3.5b	Homogenitätsprüfung der drei RRMS Gruppen bezüglich epidemiologischer und krankheitsspezifischer Daten Teil II	104
3.6	Homogenitätsprüfung der drei RRMS Gruppen bezüglich der Laborparameter vor Therapiebeginn (an V0)	105
3.7	Spontaner Verlauf der RRMS Patienten bezüglich des EDSS-Scores	106
3.8	Spontaner Verlauf der RRMS Patienten bezüglich sICAM-1	107
3.9	Spontaner Verlauf der RRMS Patienten bezüglich sVCAM-1	108
3.10	Spontaner Verlauf der RRMS Patienten bezüglich TNF-beta	109
3.11	Spontaner Verlauf der RRMS Patienten bezüglich TNF-RI	110
3.12	Spontaner Verlauf der RRMS Patienten bezüglich TNF-RII	111
3.13	Spontaner Verlauf der RRMS Patienten bezüglich sIL-4R	112
3.14	Verlauf der drei RRMS Gruppen bezüglich des EDSS-Scores	113
3.16	Verlauf der drei RRMS Gruppen bezüglich sICAM-1	114
3.17	Verlauf der drei RRMS Gruppen bezüglich sVCAM-1	114
3.18	Verlauf der drei RRMS Gruppen bezüglich TNF-beta	115
3.19	Verlauf der drei RRMS Gruppen bezüglich TNF-RI	115

3.20	Verlauf der drei RRMS Gruppen bezüglich TNF-RII	116
3.21	Verlauf der drei RRMS Gruppen bezüglich sIL-4R	116
3.22	Vergleich von RRMS Patienten vs. SPMS Patienten unter einjähriger Betaferontherapie bezüglich des EDSS-Score	117
3.23	Vergleich von RRMS Patienten vs. SPMS Patienten unter einjähriger Betaferontherapie bezüglich sICAM-1, sVCAM-1 und TNF-beta	118
3.24	Vergleich von RRMS Patienten vs. SPMS Patienten unter einjähriger Betaferontherapie bezüglich sTNF-RI, sTNF-RII, s-IL4R	119
3.25	Verlauf der SPMS Patienten unter zweijähriger Betaferontherapie bezüglich des EDSS-Score	120
3.27	Verlauf der SPMS unter zweijähriger Betaferontherapie bezüglich der Laborparameter	121
3.29	Schübe während des Krankheitsverlaufes unter einjähriger Therapie/Beobachtung der drei RRMS Gruppen	122
3.30	Schübe während des Krankheitsverlaufes unter einjähriger Betaferontherapie der RRMS Patienten vs. SPMS Patienten	122
3.31	Schübe während der zweijährigen Betaferontherapie der SPMS Patienten	123
3.37	Logistische Regression bezüglich der Schübe, der Inzidenzen grippaler Symptome und der Responderraten	124

Diagramme:

3.1	Unterschiede in den Konzentrationen des sICAM-1 bei gesunden (Gesunden) und den an Multipler Sklerose (MS) erkrankten Personen vor Therapie	36
3.2	Unterschiede in den Konzentrationen des sVCAM-1 bei gesunden (Gesunden) und den an Multipler Sklerose (MS) erkrankten Personen vor Therapie	37
3.3	Unterschiede in den Konzentrationen des TNF-beta bei gesunden (Gesunden) und den an Multipler Sklerose (MS) erkrankten Personen vor Therapie	37
3.4	Unterschiede in den Konzentrationen des TNF-RI bei gesunden (Gesunden) und den an Multipler Sklerose (MS) erkrankten Personen vor Therapie	38
3.5	Unterschiede in den Konzentrationen des TNF-RII bei gesunden (Gesunden) und den an Multipler Sklerose (MS) erkrankten Personen vor Therapie	38
3.6	Unterschiede in den Konzentrationen des sIL-4R bei gesunden (Gesunden) und den an Multipler Sklerose (MS) erkrankten Personen vor Therapie	39
3.7	EDSS-Wert vor und nach Therapie mit verschiedenen Interferonen und ohne Therapie über einen Zeitraum von einem Jahr	41
3.8	sICAM-1 Konzentration vor und nach Therapie mit verschiedenen Interferonen und ohne Therapie über einen Zeitraum von einem Jahr	43
3.9	sVCAM-1 Konzentration vor und nach Therapie mit verschiedenen Interferonen und ohne Therapie über einen Zeitraum von einem Jahr	43
3.10	TNF-beta Konzentration vor und nach Therapie mit verschiedenen Interferonen und ohne Therapie über einen Zeitraum von einem Jahr	44
3.11	TNF-RI Konzentration vor und nach Therapie mit verschiedenen Interferonen und ohne Therapie über einen Zeitraum von einem Jahr	44
3.12	TNF-RII Konzentration vor und nach Therapie mit verschiedenen Interferonen und ohne Therapie über einen Zeitraum von einem Jahr	45
3.13	sIL-4R Konzentration vor und nach Therapie mit verschiedenen Interferonen und ohne Therapie über einen Zeitraum von einem Jahr	45

1 Einleitung

1.1 Die Multiple Sklerose

1.1.1 Epidemiologie

In Deutschland gibt es, differierend je nach Studie, ca. 67.000- 138.000 an Multiple Sklerose erkrankte Patienten. Das entspricht einer durchschnittlichen Prävalenz in Deutschland von 149,1 auf 100.000 Einwohner.¹

Auf Grund von geographischen Unterschieden, einem sog. Nord-Süd-Gefälle, mit hohem Erkrankungsrisiko im Norden Europas und Amerikas, kann die Prävalenz der einzelnen Regionen in eine niedrige (<5 auf 100.000 Einwohner), in eine mittlere (5-30 auf 100.000 Einwohner) und eine hohe (>30 auf 100.000 Einwohner) eingeteilt werden.^{2,3}

Schematische Darstellung der an Multiple Sklerose Erkrankten in den verschiedenen Regionen der Erde:

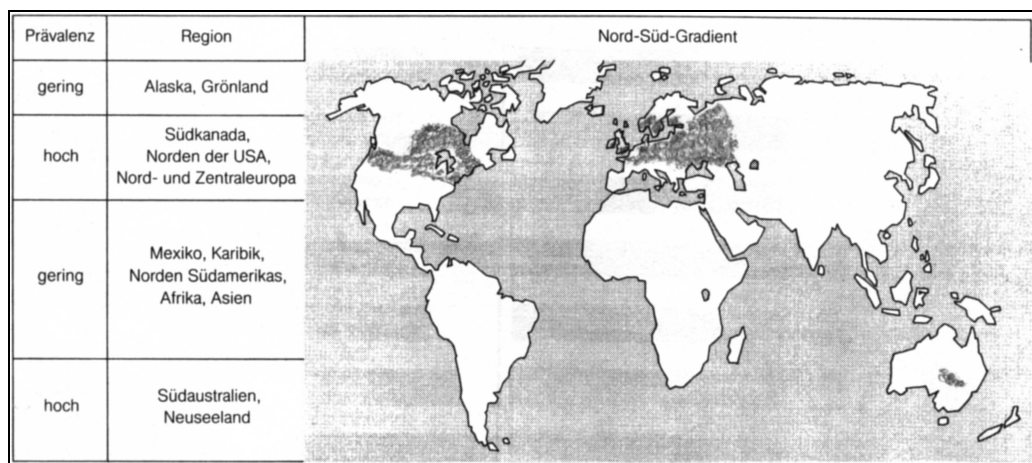


Abbildung 1.1: Weltweite Verbreitung der Multiplen Sklerose (nach epidemiologischen Untersuchungen von Kurtzke 1980)²

Das Erstmanifestationsalter, in dem 2/3 der Multiple Sklerose Patienten erkranken, liegt zwischen 20-30 Jahren. Frauen erkranken ungefähr doppelt so häufig an MS.²⁻⁵

1.1.2 Ätiologie, Genetik, Migrationsstudien

Die Ätiologie der Multiplen Sklerose ist noch gänzlich unklar. Vermutet wird eine multifaktorielle Genese aus verschiedenen Umweltfaktoren und einer genetischen Disposition.

Für Umweltfaktoren als Ursache sprechen die geographische Verteilung der Krankheitshäufigkeit, Berichte über Epidemien in umschriebenen Gebieten sowie die Migrationstudien.⁶

Letztere zeigen, daß Personen, die zur Emigrationszeit jünger als 15 Jahre alt waren, in höherem Alter die MS-Prävalenz des Immigrationslandes übernehmen, wohingegen ältere Emigranten die Erkrankungshäufigkeit ihres Ursprungslandes aufweisen.

Weiterhin ließ sich feststellen, daß Multiple Sklerose Patienten im Kindesalter vermehrt Infektionen hatten als die Durchschnittsbevölkerung.⁷⁻¹⁰

Genetisch- ätiologische Hinweise ergeben sich aus der geringeren Prävalenz der Multiplen Sklerose bei Angehörigen bestimmter Rassen, wie der schwarzen Bevölkerung, den Indianern, Eskimos, Japanern und Indern. Kinder eines an MS leidenden Elternteils erkranken 30- bis 50mal häufiger an MS als die Normalbevölkerung.¹¹ Weitere Hinweise auf eine genetische Komponente in der Ätiologie sind die Konkordanzraten von monozygoten und dizygoten Zwillingen, an MS zu erkranken. Für monozygote Zwillinge beträgt sie 25-30%, bei dizygoten liegt sie nur zwischen 2 und 4%.^{7,12-15}

In vielen Bevölkerungsgruppen läßt sich eine Beziehung zwischen der Erkrankungshäufigkeit von MS und verschiedenen HLA-Regionen auf Chromosom Nummer 6 erkennen. Die HLA-Antigene, die bei der MS am häufigsten vorkommen, sogenannte MS-„Anfälligkeits-Gene“, sind HLA-DR2 und im geringeren Maße –DR3, -B7 und –A3.^{3,7,16}

Die derzeit verbreitetste Hypothese ist, daß ein Umweltfaktor, eventuell ein Virus, dem man in der Kindheit begegnet, in die Entstehung der MS eingreift. Nach einer Latenz kommt es, durch einen sekundären noch nicht bekannten Mechanismus, zur Aktivierung von autoreaktiven T-Lymphozyten, zur Durchdringung der Blut-Hirnschranke und zur Auslösung der lokalen Entzündung im ZNS. Ein eindeutiger Virus konnte bislang weder nachgewiesen noch experimentell übertragen werden. Für eine Immunpathogenese der MS sprechen das histologische Bild der MS-Plaques sowie der Liquorbefund der MS-Patienten mit erhöhtem IgG-Index und oligoklonalen IgG-Banden.^{7,12}

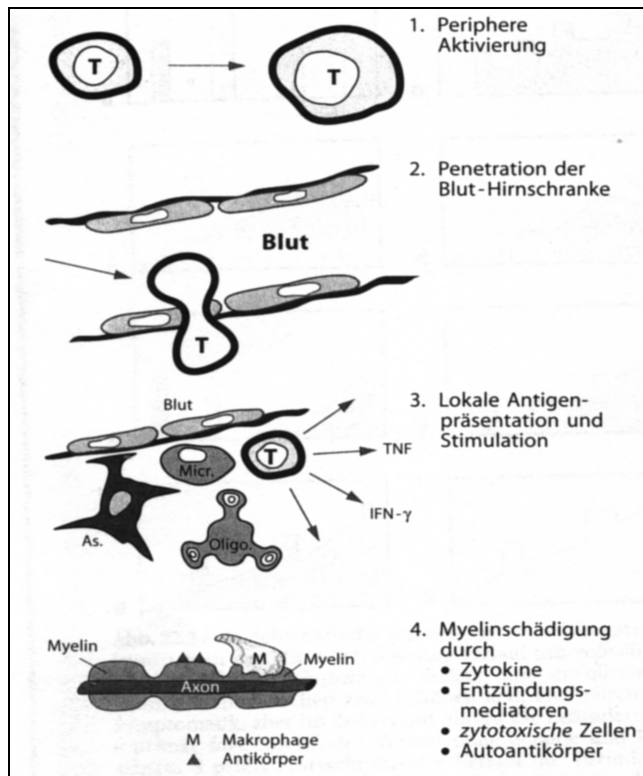


Abbildung 1.2: Schematische Darstellung einzelner Teilschritte in der Pathophysiologie der MS.⁴

1. Aktivierung autoreaktiver T-Zellen in der Peripherie

2. Durchwanderung der Blut-Hirn-Schranke

3. Lokale Antigenpräsentation durch Mikroglia (Micr.) oder Astrozyten (As.)

Produktion von entzündungsfördernder Zytokine wie Tumornekrosefaktor (TNF) und Interferon-gamma (IFN-gamma); (Oligo) Oligodendrozyt

4. Myelinschädigung. (AK) Antikörper; (M) Makrophage

1.1.3 Pathologie, Histologie

Die Multiple Sklerose ist makroskopisch charakterisiert durch zahlreich disseminiert verteilte Entmarkungsherde (sog. Plaques), die über das gesamte zentrale Nervensystem, also Rückenmark und Gehirn, verteilt sein können. Lokalisiert sind die Plaques typischerweise perivenös. Prädilektionsstellen der Entmarkungsherde liegen im Gehirn, in der periventrikulären weißen Substanz, in der grauen Substanz um den Aquaeductus cerebri, am Boden des 4. Ventrikels, in peripheren zerebralen Gyri, dem Corpus callosum, dem Sehnerv und den Sehbahnen sowie im Rückenmark in den lateralen Arealen und den Hintersträngen. Das Halsmark ist mehr als doppelt so häufig betroffen als andere Bereiche des Rückenmarks.¹²

Aktive Plaques erscheinen makroskopisch rosafarben, ödematös, weich und unscharf begrenzt. Sie können parallel zu den grauen, derben chronischen Plaques bei einer Person im Gehirn vorliegen.

Histologisch sind die Plaques im akuten Stadium mit zahlreichen Makrophagen und Lymphozyten besiedelt. Im weiteren Verlauf kommt es lokal zu einer Proliferation von Astrozyten und Oligodendrozytenvorläuferzellen, die eventuell der Remyelinisierung dienen. In ausgebrannten chronischen Plaques fehlen die Entzündungszellen weitgehend, und gliale Stützzellen überwiegen das Bild. Die hypozellulären Gebiete sind gut abgegrenzt, und es fehlt die Myelinscheide. Der Verlust bzw. die Schädigung der Axone kommt nicht nur in der Spätphase der MS vor, sondern auch in der frühen Phase, in der auch die entzündlich bedingte Demyelinisierung stattfindet.¹⁷⁻²⁰

1.1.4 Klinik, Verlauf und Symptome

Für die Symptomatik der MS lassen sich keine bestimmten Regeln aufstellen, denn die Symptome sind genauso vielfältig wie die Verteilung ihrer Plaques. Frühe Symptome, mit denen sich die Mehrzahl der MS- Patienten präsentieren, sind Sensibilitätsstörungen, Paresen und die Optikusneuritis.

Ein schubförmiger Verlauf mit einer multilokulären Symptomatik ist immer verdächtig auf MS.^{4,12}

Schub wird definiert als Auftreten eines neuen Symptoms oder Verschlechterung eines alten Symptoms, das auf die MS zurückzuführen ist, begleitet von einer entsprechenden neurologischen Störung oder einer fokalen neurologischen Funktionsstörung mit einer Dauer von mindestens 24 Stunden, ohne daß Fieber auftritt.²¹

Ein *neuer Schub* kann erst vorhanden sein, wenn nach dem letzten Schub mindestens 30 Tage oder mehr vergangen sind.

Von einer *kompletten Remission* kann man sprechen, wenn sich alle beobachteten Krankheitsmanifestationen, die im Schub aufgetreten sind, vollständig zurückgebildet haben.²²

Schübe können sich in folgenden neurologischen Defiziten äußern:

Motorische Störungen können alle Gradabstufungen haben. Von einer Beeinträchtigung der Feinmotorik über Gangstörungen bis hin zu Mono-, Para-, Tetra- oder Hemiplegien.^{4,17} Meistens sind distale Extremitätenabschnitte stärker betroffen als proximale. Häufig sind pathologische Reflexe vorhanden, wie z.B. ein positives Babinski-Zeichen. Bei weiterer Untersuchung findet man asymmetrische spastische Tonuserhöhungen und kloniforme Reflexe. Die Bauchhautreflexe sind in einem Großteil der Fälle abgeschwächt oder erloschen.^{4,12}

Sensibilitätsstörungen äußern sich in andauernden Missempfindungen, Taubheit, Pelzigkeit und Kribbeln, meist handschuh- und strumpfförmig an Händen und Füßen und am Rumpf querschnittsartig. Bei genauerer Untersuchung findet man eine verminderte Berührungsempfindlichkeit, selten aufgehobenes Tasterkennen sowie sensible Ataxien, durch die die Feinmotorik gestört wird. Bei Läsionen im Bereich der Hinterstränge des Rückenmarks findet man häufig das Lhermitte-Zeichen. Das Lhermitte-Zeichen ist positiv, wenn der Patient beim forcierten Vorbeugen des Kopfes Parästhesien „wie ein Stromschlag“ entlang der Wirbelsäule und den Extremitäten verspürt.^{4,12,23}

Zerebelläre Störungen zeigen sich als Stand,- Gang,- und Zeigeataxien, Nystagmus, Intensionstremor, Dysarthrie, Dysdiadochokinese und skandierende Sprache. Die als Charcot-Trias bekannte Symptomkombination von Nystagmus, skandierender Sprache und Intensionstremor sind eher selten und kommen meist im späteren Krankheitsverlauf vor.¹²

Augensymptome manifestieren sich als Augenmuskelparesen oder in Form von einer Retrobulbär- oder Optikusneuritis, wobei die beiden letztgenannten eine initiale Erscheinungsform bei etwa 25% aller MS-Patienten sind.⁷

Bei der Optikusneuritis beschweren sich die Patienten über ein- oder beidseitiges Schleiersehen vor den Augen oder über auftretenden Sehverlust, der bis zur vorübergehenden Erblindung führen kann. Bei genauer Befragung läßt sich eine Verminderung der Intensität gesehener Farben nachweisen. Innerhalb der nächsten 15 Jahre entwickeln 74% der Frauen und 34% der Männer mit Optikusneuritis eine definitive MS.^{4,12,24}

Bei der Retrobulbärneuritis, in 30% der Fälle ein Vorpostensymptom der MS, erkrankt nur das zentral gelegene papillomakuläre Bündel, und die Patienten können kleingeschriebene Druckschrift nicht mehr lesen. Residualsymptome der Visusminderung, die nur bei körperlicher Anstrengung oder erhöhter Körpertemperatur vorkommen, bezeichnet man als Uhthoff-Phänomen.^{4,12}

Als vegetative Symptome findet man Blasenentleerungsstörungen, Störungen der Stuhlentleerung, Sexualstörungen, Schweißsekretionsstörungen, Herz-Kreislauf-Regulationsstörungen, allgemeinen Leistungsabfall und rasche Ermüdbarkeit, die meist erst im späteren Verlauf der MS auftreten.¹²

Psychische Veränderungen können sich manifestieren als Euphorie, in depressiven Symptomen und im späten Verlauf der Erkrankung als kognitive Einbußen bis hin zu Demenzen.⁴

Symptom / Befund	Häufigkeit zu Krankheitsbeginn (%)	Häufigkeit im Verlauf (%)
Sensibilitätsstörungen	32-50	85-90
Paresen		
akut	4-10	
allmählich	4-45	90
Optikusneuritis	17-30	60-70
	13-17	30
Ataxie	11-15	50-60
Schwindel	60-12	5-50
Blasenstörungen	3-10	80
Sexualstörungen	2	50-75
Lhermitte	3	30
kognitive Störungen	2-5	50-70
Trigeminusneuralgie	2-4	10-30
Dysarthrie	1-2	50
Schmerzen	2-3	20-40
Depression	2-5	25-55
epileptische Anfälle	<1	5
Ermüdbarkeit	10-20	80
Tremor		
Intensionstremor	2	50
Kopftremor	1	20
Aktionstremor	1	10

Tabelle 1.1: Klinische Manifestationen der Multiplen Sklerose.⁷

Alle oben beschriebenen Symptome entwickeln sich als Schübe innerhalb von Tagen, Stunden oder apoplektiform. Es gibt aber auch chronische Verläufe, bei denen die Symptome über Jahre hinweg stetig zunehmen können.¹²

Bei der als schubförmig remittierend bezeichneten MS sind die Schübe klar voneinander abgegrenzt. Es kann nach dem Schub zu einer vollständigen oder partiellen, mit Residuen der Behinderung behafteten Remission kommen. Vor allem Patienten unter 25 Jahren erkranken daran.¹⁷

Die primär chronisch progrediente MS zeigt keine Schübe, sondern eine von Beginn an langsame Progredienz der Krankheitssymptome. Während die Krankheit langsam fortschreitet, können sich aber auch geringe Plateauphasen, Phasen kurzfristiger Symptomkonstanz, zeigen. Selbst geringe Rückbildungen der Symptome sind möglich. Vor allem ältere Patienten nach dem 40. Lebensjahr haben diesen Verlauf.¹⁷

Die sekundär progrediente MS beginnt als schubförmig remittierende MS, zeigt aber im weiteren Verlauf eine Progredienz der Krankheitssymptome. Im progredienten Teil der Erkrankung können Schübe der Progredienz aufgesetzt sein, die ebenfalls eine geringe Remission zeigen.¹⁷

80-90% der MS Patienten haben einen schubförmigen Verlauf, wohingegen 10-20% einen primär chronischen Verlauf zeigen. 70-80% der schubförmig Erkrankten gehen innerhalb von 10-20 Jahren in einen sekundär progredienten Verlauf über.²⁵⁻²⁸

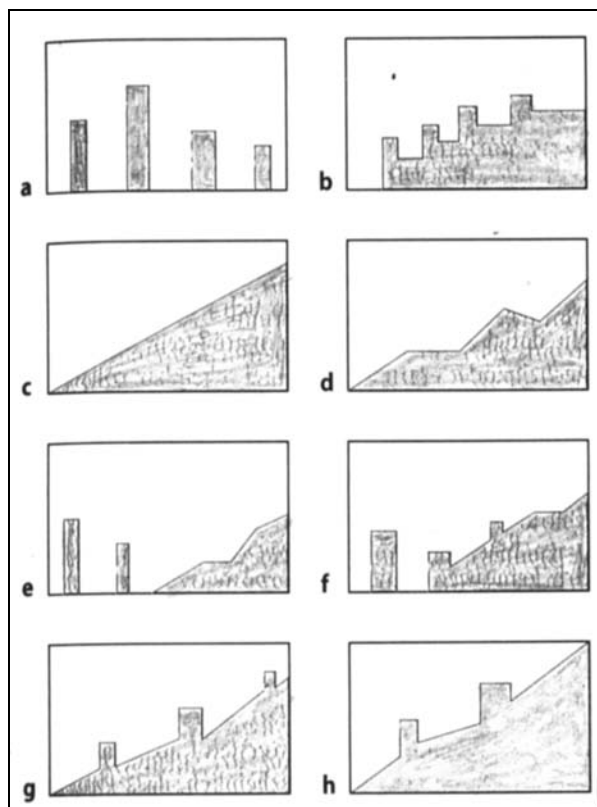


Abbildung 1.3: Schematische Darstellung der MS-Verlaufsformen, nach Lublin et al. 1996, aus *Neurology*, Poeck 2001.⁴

- a) Schubweiser Verlauf mit vollständigen Remissionen
- b) Schubweiser Verlauf mit unvollständigen Remissionen: zwischen zwei Schüben kein Fortschreiten der Symptomatik, aber im Zeitverlauf nimmt die Behinderung zu
- c) primär fortschreitender Verlauf ohne Schübe und Remissionen
- d) primär fortschreitender Verlauf mit Perioden von Stillstand und/oder gelegentlicher Besserung
- e) sekundär fortschreitender Verlauf: nach wenigen Schüben stellt sich ein chronisch fortschreitender Verlauf ein
- f) nach einigen Schüben chronisches Fortschreiten mit gelegentlichen Schüben und leichten Remissionen
- g) fortschreitend schubweiser Verlauf: von der ersten Manifestation an chronische Verschlechterung mit dazwischen auftretenden Schüben und Remissionen
- h) ähnlicher Verlauf wie g, aber keine vollen Remissionen

Als klinischer Bewertungsmaßstab für die Schwere der MS hat sich die EDSS-Skala (expanded disability status scale) bewährt. In den EDSS-Wert gehen ausschließlich die Ergebnisse von

Anamnese und klinischer neurologischer Untersuchung ein. Weiterhin konzentriert sich die Skala hauptsächlich auf die Gehfähigkeit des Patienten.

EDSS- Wert	Behinderungsgrad
0	Normalbefund in der neurologischen Untersuchung
1.0	Keine Behinderung, minimale Krankheitszeichen in einem FS
1.5	Keine Behinderung, minimale Krankheitszeichen in mehr als einem FS
2.0	Minimale Behinderung in einem FS
2.5	Minimale Behinderung in zwei FS
3.0	Mittelgradige Behinderung in einem FS oder leichte Behinderung in drei bis vier FS bei vollständig erhaltener Mobilität
3.5	Voll erhaltene Mobilität, aber mittelgradige Behinderung in drei bis vier FS
4.0	Voll erhaltene Mobilität ohne Hilfe für 12 Stunden oder mehr pro Tag trotz relativ schwerer Behinderung; Gehfähigkeit von 500 m ohne Hilfe
4.5	Voll erhaltene Mobilität ohne Hilfe für den Großteil des Tages. Erhalt der Fähigkeit, ganztags zu arbeiten, mit nur geringer Einschränkung der vollen Aktivität oder minimaler Hilfsbedürftigkeit; relativ schwere Behinderung; erhaltene Gehfähigkeit, 300m ohne Hilfe zu gehen
5.0	Mobilität für etwa 200m erhalten; die Behinderung beeinträchtigt alle täglichen Aktivitäten
5.5	Mobilität für 100m erhalten; die Behinderung beeinträchtigt alle alltäglichen Aktivitäten
6.0	Gelegentliche oder einseitig konstante Hilfestellung ist nötig, um 100m ohne Pause zu gehen
6.5	Konstante beidseitige Hilfe ist nötig, um 20m ohne Hilfe zu gehen
7.0	Unfähig, mit Hilfestellung mehr als 5m zu gehen; hauptsächlich beschränkt auf den Rollstuhl. Patient ist in der Lage, sich selbstständig mit dem Rollstuhl zu bewegen und diesen zu verlassen oder sich hineinzusetzen
7.5	Unfähig, mehr als einige Schritte zu gehen; Patient ist auf den Rollstuhl beschränkt und benötigt eventuell Hilfe zum Verlassen des Rollstuhls oder zum Hineinsetzen. Patient kann den Rollstuhl selbstständig bewegen, braucht aber eventuell einen motorisierten Stuhl zur Aufrechterhaltung der vollen täglichen Aktivitäten
8.0	Im wesentlichen beschränkt auf Bett oder Stuhl oder Transport in einem Rollstuhl. Patient kann sich den Großteil des Tages außerhalb des Bettes aufhalten. Erhaltene Fähigkeit zur Eigenpflege und erhaltene Funktion der Arme.
8.5	Hauptsächlich beschränkt auf das Bett für den Großteil des Tages, erhaltene Restfunktion der Arme, teilweise erhaltene Fähigkeit zur Eigenpflege
9.0	Hilfloser, bettlägeriger Patient, fähig zur Kommunikation und Nahrungsaufnahme
9.5	Unfähig zur Kommunikation oder zum Essen/ Schlucken
10.0	Tod als Folge der Multiplen Sklerose

Tabelle 1.2: Extended Disability Status Scale (EDSS) nach Kurtzke, Übersetzung aus dem Englischen (FS= funktionelles System)²⁹

1.1.5 Prognose

Eine individuelle Prognose am Anfang der Erkrankung zu stellen ist nicht möglich. Die Prognose der Erkrankung hinsichtlich ihrer Überlebenszeit wird am Entschiedensten vom momentanen Behinderungsgrad, z.B. dem nach Kurtzke, bestimmt. In den meisten Fällen ist die Lebenserwartung durch die Erkrankung kaum verkürzt, im Durchschnitt um fünf bis sieben Jahre.^{4,30} Bei ungefähr einem Viertel der Patienten behindert die Erkrankung nicht die Aktivitäten des täglichen Lebens, wohingegen 15% der Patienten innerhalb kürzester Zeit schwerwiegende Behinderungen entwickeln können. Die durchschnittliche Zeit, in der ein Patient durch die Erkrankung einen EDSS von 6,0 entwickelt, liegt bei 15 Jahren und einen von 8,0 bei 25 Jahren.⁵

Bislang anerkannte prognostische Faktoren sind, daß die schubförmige MS günstiger ist als die progrediente. Ein einzelnes Symptom und wenige Schübe sind günstiger als eine polysymptomatische Erkrankung mit vielen Schüben und langer Symptomatik zu Beginn.²⁵ Frauen haben im allgemeinen eine günstigere Prognose als Männer.⁵

Die Anzahl der Schübe wird ebenfalls durch eine Schwangerschaft beeinflusst. Die Schubrate ist während der Schwangerschaft zwar geringer, doch steigt sie in den ersten drei Monaten nach Entbindung um den Faktor zwei bis drei an.³¹

1.1.6 Diagnostik, Diagnosekriterien

Um die Diagnose MS zu stellen, gibt es keine spezifischen Symptome oder paraklinischen Befunde. Hinweise auf eine MS geben vor allem die Beschwerden und der klinische Untersuchungsbefund. Weiterhin müssen mögliche Differentialdiagnosen ausgeschlossen werden.

Zu den paraklinischen Untersuchungsbefunden werden der Liquorbefund, das MRT sowie die evozierten Potentiale (wie VEP, SEP, AEP, TCS) gerechnet. Sie dienen auf Grund ihrer Empfindlichkeit vor allem dem Nachweis von asymptomatischen Läsionen.³²

Mehr als 90% der MS Patienten haben einen pathologischen Liquor, der die Diagnose einer entzündlichen Erkrankung des ZNS, der Hirnhäute oder der Nervenwurzeln gibt. Es zeigt sich eine mononukleäre Pleozytose sowie das Vorkommen von Plasmazellen im Liquor. Das Gesamteiweiß kann normal sein oder auf 0,60- 0,80g/l erhöht sein. Ein stärkerer Hinweis auf eine MS ist der erhöhte IgG Anteil im Liquor durch eine lokale IgG Produktion im ZNS. Die autochthone Produktion läßt sich durch den Delpech-Lichtblau-Quotienten, $\text{IgG-Index} = \text{IgG-}$

Liquor/ IgG-Serum x Serumalbumin/ Liquoralbumin, nachweisen. Weiterhin lässt sich IgG, das von einzelnen Plasmazellen produziert wird, als sog. oligoklonale Banden in der isoelektrischen Fokussierung des Liquors nachweisen.^{4,12,26,33-35}

Das MRT dient als äußerst empfindliche Methode auch dem Nachweis von asymptomatischen Plaques im ZNS. Es gibt aber keine für die MS spezifischen MRT Erscheinungen.³⁶ Vier Prozent der gesunden Bevölkerung haben periventrikuläre Läsionen, die von der MS nicht unterschieden werden können.³⁷ Eine Übereinstimmung zwischen dem Schweregrad der neurologischen Symptome und dem Ausmaß der MRT Läsionen besteht nicht. Seriell durchgeführt kann die Bildgebung das Fortschreiten der Erkrankung demonstrieren. Frische entzündliche Läsionen lassen sich ca. noch vier bis sechs Wochen nach ihrer Entstehung mittels dem paramagnetischen Kontrastmittel Gd-DTPA darstellen. Durch die an diesen Stellen gestörte Blut-Hirnschranke reichert sich das Kontrastmittel dort an und führt zu einer Verkürzung der T1- und T2-Relaxationszeit der umliegenden Wasserstoffkerne.^{4,12,38}

Um eine endgültige Diagnose MS zu stellen, waren bislang die seit 1983 verwendeten Poserkriterien mit einer Spezifität für die Diagnose MS von 94% gebräuchlich.^{39,40} Sie teilen die Diagnosekriterien nach ihrer Zuverlässigkeit in zwei unterschiedliche Gruppen ein, einmal als gesicherte und zum anderen als die wahrscheinliche Diagnose. Jede Gruppe enthält zwei Untergruppen nach der Art der Diagnosesicherung, entweder eine laborunterstützte, oder eine rein klinisch gesicherte Diagnose.

Klinisch gesicherte Diagnose

Entweder

- 2 Schübe und 2 voneinander räumlich getrennte Herde im ZNS, durch den neurologischen Befund dokumentiert

oder

- 2 Schübe, 1 Herd im neurologischen Befund, 1 zusätzlicher Herd durch paraklinische Untersuchungen belegt

Durch Laboruntersuchungen untermauerte Diagnose

Entweder

- 2 Schübe, 1 Herd durch neurologische Untersuchung oder paraklinische Befunde dokumentiert, zusätzlicher Nachweis von oligoklonalen Banden oder/und erhöhter autochthoner IgG Produktion im ZNS

oder

- 1 Schub, 2 Herde im neurologischen Untersuchungsbefund und Nachweis von oligoklonalen Banden und/oder erhöhtem IgG

oder

- 1 Schub, 1 Herd durch neurologischen Befund, 1 Herd durch paraklinische Untersuchung und Nachweis von oligoklonalen Banden und/oder erhöhtem IgG im Liquor

Klinisch wahrscheinliche Diagnose

Entweder

- 2 Schübe, 1 Herd durch neurologischen Befund

oder

- 1 Schub, 2 Herde durch neurologischen Befund

oder

- 1 Schub, 1 Herd durch neurologischen Befund und 1 Herd durch paraklinische Befunde

Durch Laboruntersuchungen untermauerte wahrscheinliche Diagnose

- 2 Schübe, oligoklonale Banden bzw. erhöhtes IgG im Liquor

Sinngemäß kann auch eine mehr als 6 Monate anhaltende Progression anstelle der geforderten 2 Schübe treten.

Tabelle 1.3: Kriterien für die klinische Diagnose der Multiplen Sklerose nach Poser et al.¹²

Da der eigentliche Krankheitsbeginn der MS vor den ersten klinischen Symptomen liegt und eine frühe Therapie der MS in Studien deutlich nachgewiesene Vorteile bringt, gelten seit 2001 die neuen Diagnosekriterien nach McDonald. Diese berücksichtigen nun auch die frühen axonalen Schäden, die eventuell nachweisbare Verminderung des Hirnsubstanzvolumens und weisen eine PPMS frühzeitig nach.^{41,42}

KLINIK		Zusätzlich notwendige Daten um die Diagnose zu stellen
Schub	Objektiv nachweisbare Läsion	
Zwei oder mehr	Zwei oder mehr	° Keine Untersuchung erforderlich, klinische Evidenz ausreichend (ergänzende Evidenz erstrebenswert, muß in Übereinstimmung mit MS sein)
Zwei oder mehr	Eine	° Dissemination im Raum (MRT) oder ~ positiver Liquorbefund und zwei oder mehr MS-typische MRT Läsionen oder ~ weiterer Schub (andere Lokalisation)
Einer	Zwei oder mehr	° Dissemination in Zeit (MRT) oder ~ zweiter Schub
Einer (mono-symptomatisch, CIS)	Eine	° Dissemination im Raum (MRT) oder ~ positiver Liquorbefund und zwei oder mehr MS-typische MRT Läsionen und ° Dissemination in Zeit (MRT) oder ~ zweiter Schub
Keiner (primär progressive MS)	Eine	° positiver Liquorbefund und ° Dissemination im Raum (MRT): neun oder ~ mehr zerebrale T2-Läsionen oder ~ zwei oder mehr spinale Läsionen oder ~ vier bis acht zerebrale und eine spinale Läsion ~ abnorme VEP und vier bis acht zerebrale MRT Läsionen oder ~ abnorme VEP und weniger als vier zerebrale Läsionen und eine spinale Läsion und ° Dissemination in Zeit (MRT) oder ~ kontinuierliche Progression für ein Jahr

Tabelle 1.4: Kriterien für die Diagnose der Multiplen Sklerose nach McDonald et al, 2001.⁴³

1.1.7 Differentialdiagnose

Auf Grund der Vielfalt der klinischen Symptome und Verläufe der MS gibt es zahlreiche Erkrankungen, die differentialdiagnostisch ausgeschlossen werden müssen. Fehlen von Zeichen einer Optikusneuritis, völlig unauffällige Augenbewegungen, ein hemianopischer Gesichtsfelddefekt, Schmerz als Hauptsymptom und das Vorhandensein von Muskelatrophien müssen Vorsicht bei der Diagnose MS geben.

Krankheiten, die eine schubförmige oder schubförmig remittierende MS mit multiplen Läsionen imitieren können, sind systemische Autoimmunerkrankungen wie der Lupus erythematodes, die

Panarteriitis nodosa, die Wegenersche Granulomatose, der Morbus Behçet, die Sarkoidose, die ADEM, die SMON, zerebrovaskuläre (embolische) Erkrankungen, paraneoplastische Enzephalomyelitiden oder durch persistierende Erreger bzw. parainfektios bedingte Enzephalitiden, wie die Borreliose, die Toxoplasmose, AIDS, HTLV-I und die meningovaskuläre Syphilis.⁴⁴

Die primär chronisch progrediente MS mit multilokulärem Befall kann durch folgende Krankheiten imitiert werden: myatrophische Lateralsklerose, hereditäre degenerative Erkrankungen, wie die primäre Lateralsklerose, spastische Spinalparalyse, spinocerebelläre Ataxien, olivopontocerebelläre Atrophie, Adrenoleukodystrophie sowie Vitamin-B12-Mangel.

Isolierte Läsionen, die einen progressiven oder pseudoremittierenden Verlauf nachahmen können, sind diverse intrakranielle oder spinale Tumore, Zysten, arteriovenöse Malformationen, Arnold-Chiari-Malformation und die zervikale Spondylose.

Das im Kinder- oder Jugendalter vorkommende Devic-Syndrom, die konzentrische Sklerose von Baló und die Schilder-Krankheit werden eher als MS-Varianten gesehen als als Differentialdiagnosen bezeichnet.^{7,12,45-49}

1.1.8 Therapie

Es gibt zur Zeit keine kausale MS-Therapie, nicht zuletzt, weil die Ätiologie noch unbekannt ist. Die Therapie für die MS Erkrankung kann in drei Therapieansatzpunkte unterteilt werden. Es gibt die Behandlung des aktuellen Schubes, eine prophylaktische Dauertherapie der MS und eine symptombezogene Therapie.

Das Mittel der ersten Wahl für eine Therapie im akuten Schub sind die Kortikosteroide.⁵⁰ Indiziert ist die Therapie mit Kortikosteroiden bei Patienten mit einer deutlichen Beeinträchtigung durch den aktuellen Schub. Sie erhalten morgens an drei aufeinander folgenden Tagen 1000mg Methylprednisolon i.v.. Eine Ausdehnung auf fünf aufeinander folgende Tage bei noch nicht eindeutiger Rückbildungstendenz der Schubsymptomatik ist möglich. Anschließend wird über zwei bis vier Wochen, je nach Verträglichkeit, mit oralen Prednisolongaben ausschleichend behandelt.^{50,51} Eine initiale orale Therapie mit 500mg Methylprednisolon einmal pro Tag über fünf Tage stellt eine alternative orale Hochdosistherapie dar.⁵² Die antiinflammatorische und/oder immunsuppressive Wirkung der Kortikosteroide sowie ihre antiödematöse Wirkung stabilisieren die Blut-Hirn-Schranke und vermindern die Reaktionsfreudigkeit von Lymphozyten gegenüber aktivierenden Stimuli. Weiterhin blockieren sie die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine. Die Hochdosistherapie scheint einen direkten

Membraneffekt zu haben und zu einer beschleunigten Apoptose der eingewanderten Lymphozyten zu führen.^{53,54} Die Kortikoidtherapie verkürzt die Dauer der Schübe. Sie soll die Rückbildung der Schubsymptomatik verbessern und im frühen Stadium der Erkrankung auch die Zeitdauer bis zum nächsten Schub verlängern. Es gibt aber keinen Hinweis darauf, daß die Steroide einen signifikanten Effekt auf den endgültigen Krankheitsverlauf oder auf Rezidive haben.^{55,56} Chronische Verlaufsformen werden durch die Therapie weniger beeinflusst, obwohl eine hochdosierte Intervalltherapie (die Applikation von Hochdosiskortisonpräparaten viermal pro Jahr) bei primär chronisch progredientem Verlauf sinnvoll sein kann.⁵¹ Auf Grund des kurzen Applikationszeitraums haben die Steroide im Gegensatz zu einer längeren Anwendung geringe Nebenwirkungen. Als Nebenwirkungen gelten Hyperkortisonismus, Hypertonie, Hyperglykämie, Osteoporose, aseptische Nekrose des Azetabulums, Katarakte, gastrointestinale Blutungen, die Aktivierung einer bestehenden Tuberkulose, Schlaflosigkeit und manische oder depressive Symptome.^{57,58,59}

Als prophylaktische Dauertherapie haben sich die Betainterferone als gentechnisch hergestellte Zytokine etabliert. Ihre Wirkung beruht auf der Antagonisierung von Interferon induzierten proinflammatorischen Effekten als sog. IFNgamma-Antagonisten. Indiziert sind sie bei Patienten mit schubförmig remittierendem und mit sekundär chronischem Verlauf.⁶⁰⁻⁶² Nach den bisherigen Empfehlungen der MSTKG sollte eine immunmodulatorische Basistherapie bei aktivem Krankheitsverlauf mit mindestens zwei funktionell relevanten Schüben in den letzten beiden Jahren oder beim Auftreten eines schweren Krankheitsschubes mit schlechter Remissionstendenz begonnen werden.⁶³ Weitere Studien empfehlen eine frühzeitige Interferontherapie, um die irreversible axonale Schädigung, die häufig schon vor dem Nachweis von klinischen MS Symptomen beginnt, zu verzögern bzw. ihr vorzubeugen.^{42,64} Es wurde festgestellt, daß ein früher Therapiebeginn schon nach dem ersten Schub den zweiten Schub, und damit die klinisch sichere MS, um ca. neun Monate verzögert.⁶⁵ Bei den drei im folgenden genannten Betainterferonen ist in Studien nachgewiesen worden, daß sie die Zahl und die Schwere der Schübe sowie die Anzahl der aktiven Läsionen im MRT statistisch signifikant reduzieren. Weiterhin wird bei einigen Patienten zusätzlich die Progression des Behinderungsgrades positiv beeinflusst.^{60,66-69}

Vom rIFNbeta-1b (Betaferon) werden jeden zweiten Tag acht Mio. Einheiten s.c. appliziert, beim rIFNbeta-1a (Avonex) sind es sechs Mio. Einheiten (30µg) einmal pro Woche i.m. und bei rIFNbeta-1a (Rebif) sind es dreimal pro Woche sechs oder dreimal pro Woche 12 Mio. Einheiten (22µg oder 44µg) s.c..

Bei der Subkutanapplikation der Interferone werden häufiger Entzündungen an der Einstichstelle und seltener auch Nekrosen beobachtet, als bei der intramuskulären Applikation. Weitere

Nebenwirkungen sind bei den drei Substanzen ähnlich. Zu Beginn der Therapie kommt es häufig zu grippeähnlichen Symptomen wie Kopf- und Gliederschmerzen, Übelkeit, Schüttelfrost und leichte Temperaturerhöhungen. Diese Symptome können durch eine zusätzliche Gabe von nichtsteroidalen Antiphlogistika gehemmt werden. Weitere unerwünschte Wirkungen sind die Auslösung von Depressionen, Menstruationsstörungen und eine eventuelle teratogene Wirkung, weshalb die Behandlung in der Schwangerschaft nicht zulässig ist. Leichte Transaminasenerhöhungen und eine leichte Leukozytopenie bedürfen keiner Therapieänderung, sollten aber regelmäßig kontrolliert werden.^{63,70} Als letztes sei noch die Möglichkeit einer Antikörperbildung gegen die Betainterferone genannt, die selten einmal im Verlaufe der Behandlung auftreten kann.^{71,72} Andere Medikamente, die für die schubförmig remittierende MS eingesetzt werden, sind Azathioprin, dessen Effekt erst nach einer drei- bis viermonatigen Latenzzeit einsetzt, das Copolymer-1, das bei der experimentellen Immunezephalitis sehr wirksam ist, und die Immunglobulintherapie. Da diese Medikamente in einigen Studien einen geringeren Effekt zeigen und es wenige gut kontrollierte Studien gibt, werden sie als Mittel der zweiten Wahl eingesetzt.⁷³⁻⁷⁶

Allgemeine Maßnahmen, wie ausreichende Bettruhe (besonders während der Schübe), genügend Rekonvaleszenzzeit, Verhütung exzessiver Ermüdung und Vermeidung von Infektionen dienen der Verschlechterung des Krankheitszustandes vorzubeugen.

Zur symptomatischen Behandlung gehört die Therapie der Spastik mit Baclofen, Tizanidin oder Benzodiazepinen erst als Monotherapie und später eventuell in Kombination. Bei Therapieresistenz ist eine intrathekale Dauerapplikation über eine implantierte Pumpe möglich. Lokale Kälteanwendungen, Hydrotherapie und die unverzichtbare Krankengymnastik wirken der Spastik aktiv entgegen. Die oft bei MS Patienten vorkommende abnorme Müdigkeit kann mit Amantadin behandelt werden. Gegen die paroxysmalen Syndrome und Myoklonien werden Antiepileptika wie Carbamazepin eingesetzt. Der Intensionstremor kann auch mit Carbamazepin erfolgreich behandelt werden, weitere Medikamente sind Propanolol und Primidon. Blasenstörungen sollten eingehend urologisch untersucht werden und können dann durch physikalische Maßnahmen oder sterile Einmalkatheterisierung, aber auch symptomorientiert durch miktions-hemmende/fördernde Medikamente beeinflusst werden.⁷⁰

1.1.9 Multiple Sklerose im Vergleich zum Tiermodell

Die EAE (experimentelle Autoimmunenzephalomyelitis) sind verschiedene Tiermodelle, die zum besseren Verständnis der Pathogenese der MS beitragen. Durch eine möglichst genaue Reproduktion der klinischen, pathologischen und immunologischen Veränderungen der Multiplen Sklerose in diesen Modellen versucht man neue Erkenntnisse über die MS zu gewinnen. So können Modelle reproduziert werden, die den Plaques, der menschlichen Multiplen Sklerose, in ihren strukturellen Veränderungen, der topographischen Verteilung und dem Muster der Herdentstehung fast identisch sind.

Auf Grund zahlreicher verschiedener Modelle wird hier nur auf deren Grundprinzip eingegangen.

Bei der „aktiven“ EAE wird dem Versuchstier s.c. homogenisiertes Gewebe des ZNS und immunverstärkende Adjuvantien injiziert. Nach einer Latenz von drei bis vier Wochen kommt es zu einer akuten Enzephalomyelitis oder einer chronischen rezidivierenden EAE, die ebenfalls eine Demyelinisierung zeigt.

Bei der „passiven“ EAE werden dem Versuchstier bereits gegen Myelinbestandteile aktivierte Th1-T-Lymphozyten in Kombination mit Antikörpern gegen basische Myelinproteine intravenös injiziert, um so eine akute Entzündung und eine Demyelinisierung auszulösen.⁷⁷⁻⁷⁹

Merkmal	Multiple Sklerose	EAE-Modelle
klinisches Erscheinungsbild		
Schübe und Remission	vorhanden	vorhanden
Lähmungen	vorhanden	vorhanden
Ataxie	vorhanden	vorhanden
visuelle Behinderung	vorhanden	vorhanden
Genetik		
MHC bezogene Empfänglichkeit	ja	ja
Erhöhte Empfänglichkeit für Frauen	ja	ja
Pathologie der Läsionen		
gegen Myelin gerichtete reaktive T-Zellen	vorhanden	vorhanden
Antikörper gegen Myelin	vorhanden	vorhanden
alpha-4-Integrin, Komplement	vorhanden	vorhanden
TNF-alpha, IFN-gamma	vorhanden	vorhanden
Demyelinisierung	vorhanden	vorhanden
Axonschädigung	vorhanden	vorhanden
Therapie		
systemisch IFN-gamma	Verschlechterung	Heilung
systemisch Anti-TNF-alpha	Verschlechterung	Heilung
IL-4 transduzierte T-Zellen	nicht durchgeführt	Heilung
TNF-alpha transduzierte T-Zellen	nicht durchgeführt	Verschlechterung
Copaxone	Verbesserung	Heilung
INF-beta	Verbesserung	Verbesserung

Tabelle 1.5: Vergleich zwischen MS und EAE, aus *Immunotherapie of multiple sclerosis: the end of the beginning*, Steinmann L, Curr Opin Immunol 2001.⁸⁰

1.1.10 Pathophysiologisches Modell

Obwohl die tatsächliche Ursache der Multiplen Sklerose noch gänzlich unklar ist, wird sie generell als Autoimmunerkrankung charakterisiert, bei der sich Myelin Antigene gegen das ZNS richten, Myelin zerstören und eine chronische entzündliche Antwort hervorrufen.⁸¹

Es wird angenommen, daß es in der Peripherie durch noch unbekannte Mechanismen, z.B. durch einen Virus und kostimulatorische Faktoren, zur Aktivierung von autoreaktiven T-Zellen kommt.⁸¹⁻⁸³ Molekulares Mimikry, das Wiedererkennen von homologen Aminosäuresequenzen von körperfremden auf körpereigenen Antigenen mit konsekutiver Richtung des Immunsystems auch gegen körpereigene Bestandteile, kann ein weiterer Mechanismus der Aktivierung sein.⁸⁴⁻⁸⁶ Erst nach der Aktivierung in der Peripherie sind die gegen die Myelinscheide des ZNS gerichteten autoreaktiven T-Zellen dazu fähig, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Auch bei gesunden Menschen wurden autoreaktive T-Zellen gegen ZNS Bestandteile z.B. gegen MBP nachgewiesen.⁸⁷ Im ZNS angelangt, kommt es mit Hilfe kostimulatorischer Faktoren zu einer erneuten Aktivierung der T-Zellen. Sie erfolgt durch Präsentation des gegen die T-Zellen gerichteten Myelin-Antigens durch MHC Klasse II Moleküle, die auf der Membran von Antigen präsentierenden Zellen exprimiert werden. Als APC-Zellen des ZNS fungieren Makrophagen, Mikrogliazellen, Astrozyten und andere Zellen des ZNS. Es kommt zu einer kaskadenartigen Produktion von proinflammatorischen Zytokinen durch autoreaktiven Th1-Zellen und durch andere Zellen des ZNS. Die Zytokine dienen der verstärkten Präsentation von MHC Klasse II Molekülen auf weiteren APC, der Aufrechterhaltung der Entzündung und sie tragen zur weiteren Myelinzerstörung bei.^{88,89} Bekannte proinflammatorisch wirkende Zytokine sind Interferon-gamma, Tumor Nekrose Faktor-beta, und der Tumor Nekrose Faktor-alpha.^{90,91} Das lokale Milieu im ZNS verändert sich schnell, und die Konzentrationen der entzündungsfördernden Mediatoren erhöhen sich zunehmend mit der Folge einer stärkeren Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke und einer sekundären Einwanderung von Monozyten und anderen Entzündungszellen. Zytokine haben aber nicht nur destruierende und proinflammatorische Aufgaben, sondern unterstützen auch die Remyelinisierung. Sogenannte antiinflammatorische Zytokine werden von autoreaktiven Th2-Zellen produziert, zu ihnen gehören IL-4, IL-5, IL-10 und TGF-beta.⁹⁰

Die einfache Vorstellung, daß die MS Pathogenese auf einem Ungleichgewicht zwischen Th1- und Th2-Zellen beruht, bleibt ein mögliches Modell. In einigen EAE- Modellen steuert tatsächlich die Th1-Immunantwort die Krankheitsaktivität, und ein Wechsel zur Th2-Immunantwort korreliert mit einer Besserung der Krankheitsaktivität.⁹² Für die MS gibt es dazu

noch ungenügend Beweise. In den MS Läsionen des ZNS und im Liquor sind sowohl Th1- als auch Th2-Zell-Zytokine nachweisbar.^{90,93,94}

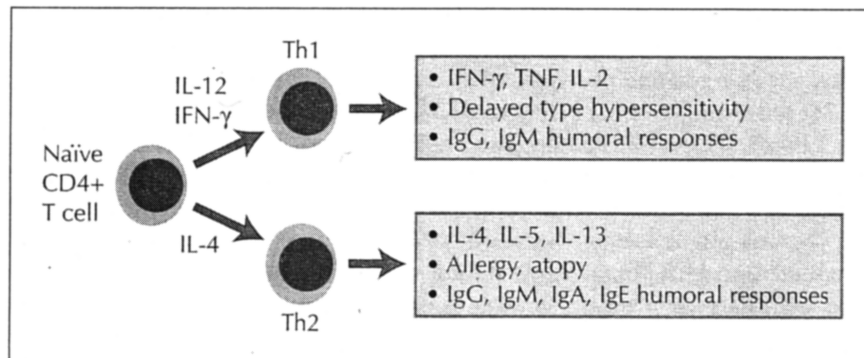


Abbildung 1.4: Zytokine der Th1- und Th2- Zellen, aus T Cells, Cytokines, and Autoantigenes in Multiple Sklerosis, Gran B. et al., Curr Neurol Neurosci Rep 2001.⁹⁵
(IFN= Interferon; Ig= Immunglobulin; IL= Interleukin; TNF= Tumor Nekrose Faktor)

Die zwei Hauptuntergruppen der CD4+ T-Helferzellen können durch ihre Fähigkeit unterschiedliche Zytokinmuster zu produzieren, unterschieden werden. Bedingt durch die Art, der Dosis und dem Weg, auf dem sich Antigene präsentieren, dem genetischen Hintergrund des Individuum und den in der Umgebung befindlichen Zytokinen entwickelt sich eine naive CD4+ Vorläuferzelle in eine Th1- oder Th2- Helferzelle.

Die Pathogenese der MS scheint viel komplexer zu sein als einfach nur eine Th1-Zell vermittelte Autoimmunerkrankung des ZNS. Zum Beispiel konnte in mehreren Studien nachgewiesen werden, dass CD8-T-Zellen Oligodendrozyten und Neuronen schädigen und sogar zerstören können.^{18,96-98}

Auch die B-Zellen und ihre Produkte spielen in der Pathogenese der MS eine wichtige Rolle. Sie scheinen für die intrathekale Produktion von Immunglobulinen und für die Bildung von Ak, wie die gegen MBP, MOG, PLP und MAG, verantwortlich zu sein.⁹⁹⁻¹⁰¹ Demyelinisierende Autoantikörper aktivieren Komplement und ziehen Makrophagen und Mikroglia in den Entzündungsherd. Makrophagen, Mikrogliazellen und andere Zellen setzen wiederum Komplement und Entzündungsmediatoren, wie Protein zerstörende Enzyme, Matrixmetalloproteinasen, Zytokine, Chemokine, reaktive Sauerstoffradikale, Stickoxidmetabolite und Eicosanoide frei und schädigen ebenfalls das Myelin.¹⁰²⁻¹⁰⁴

All diese Faktoren stimulieren wieder andere Entzündungszellen, schädigen weiterhin die Blut-Hirn-Schranke und verletzen selbst Gewebsstrukturen, nicht nur die des Myelins und der Oligodendrozyten.¹⁰⁵⁻¹⁰⁶

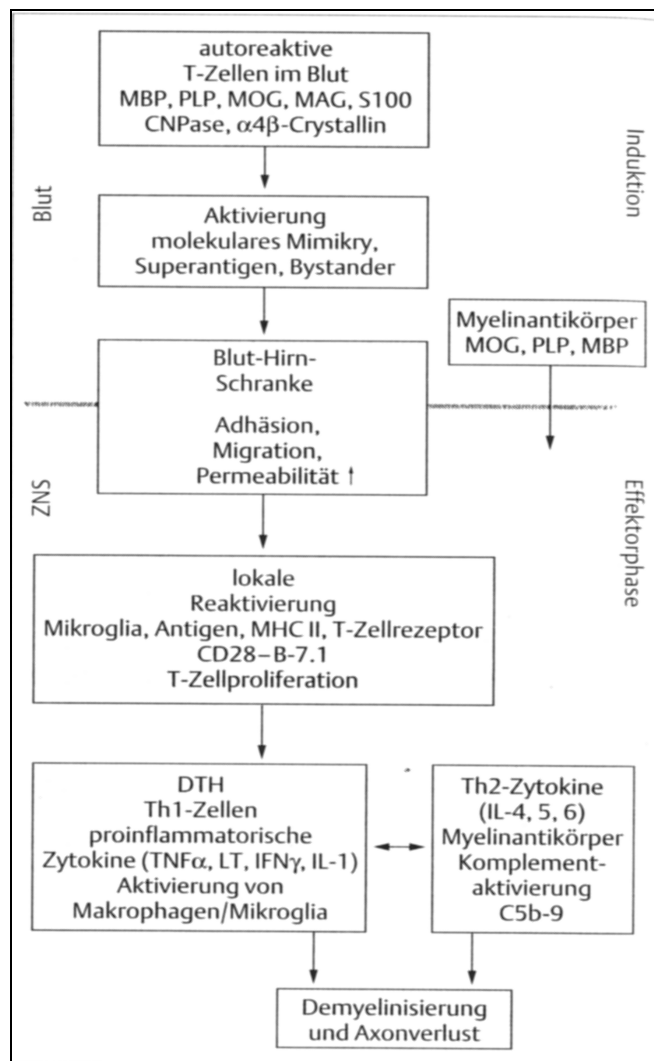


Abbildung 1.5: Schematische Darstellung der Pathogenese der Multiplen Sklerose.¹²

Diverse Modelle zeigen nachweislich, daß es mehrere grundsätzlich verschiedene pathogenetische Mechanismen gibt, die letztendlich zu einer Erkrankung führen, die der MS gleichende, entzündlich demyelinisierende Läsionen aufweist. Es besteht außerdem eine Heterogenität innerhalb des Krankheitsmusters der MS selbst, wie Unterschiede in der Schwere der Entzündung, dem Ausmaß der Oligodendrozytenzerstörung, des Axonenverlustes und der nachfolgenden Remyelinisierung. Nicht zuletzt zeigt der immunologische Aufbau und die Zellzusammensetzung der aktiven Herde ebenfalls eine Heterogenität. Das Demyelinisierungsmuster ist zwischen den Patienten heterogen, aber homogen innerhalb der zahlreichen aktiven Plaques desselben Patienten.^{20,107,108}

1.1.11 Die Blut-Hirn-Schranke

Der Eintritt von Leukozyten durch die Blut-Hirn-Schranke ist ein komplexer, noch nicht vollständig geklärter Vorgang, der die Aktivierung von Immun-, Endothel- und Gliazellen voraussetzt, eine Hochregulation von Zelloberflächenrezeptoren und Adhäsionsmolekülen verlangt, die Sekretion von Zytokinen und Chemokinen beinhaltet und proteolytische Enzyme zur Zerstörung der Basalmembran und extrazellulärem Gewebe benutzt.¹⁰⁹ Die Blut-Hirn-Schranke wird durch die Blutkapillaren des ZNS gebildet, die aus nicht gefensterten Endothelzellen bestehen und von der abschließenden Basalmembran umgeben sind. Um eine parazelluläre Diffusion zu verhindern, sind diese Endothelzellen über molekulare parazellulär verlaufende Zellkontakte, sogenannte „tight junctions“, verbunden.

Zuerst kommt es zu einem lockeren reversiblen Kontakt des aktivierten T-Lymphozyten mit der Endothelzelle mittels Selektinen und ihren Liganden („tethering“ oder „rolling“). Diesem initialen Selektin gesteuerten Vorgang folgt eine feste Anhaftung des Lymphozyten an das Endothel durch Integrine und Mitglieder der Immunglobulin Superfamilie wie VLA-4/VCAM-1 oder LFA-1/ICAM-1, und es kommt zum Durchdringen („diapedese“) des Lymphozyten durch den interzellulären Spalt ins ZNS.¹¹⁰ Die ins ZNS gewanderten T-Lymphozyten wirken auf lokale Astrozyten, Oligodendrozyten und Gliazellen sowie auf die extrazellulären Matrixkomponenten gegenseitig ein. So ist es begreiflich, daß Astrozyten als Komponente der Blut-Hirn-Schranke, die ebenfalls ICAM-1 und VCAM-1 exprimieren, die transendotheliale Migration von Leukozyten ins ZNS Gewebe erleichtern. Einige der Adhäsionsmoleküle, wie ICAM-1, VCAM-1 und Selektine, werden nach ihrer Wechselwirkung mit den Lymphozyten von der Zelloberfläche der Endothelzellen abgeworfen („shedding“) und sind so als lösliche, frei zirkulierende Zytokine im Serum nachweisbar.^{111,112} Die durch das Endothel gewanderten aktivierten T-Lymphozyten müssen, um weiter ins ZNS zu penetrieren, die um den Kapillaren gelegene extrazelluläre Matrix, die hauptsächlich aus Kollagen IV besteht, durchbrechen. Zusammen mit NK-Zellen sondern sie Matrixmetalloproteinasen, wie Gelatinase A und B, ab, die ein Durchdringen der Matrix ermöglichen.¹¹³⁻¹¹⁵

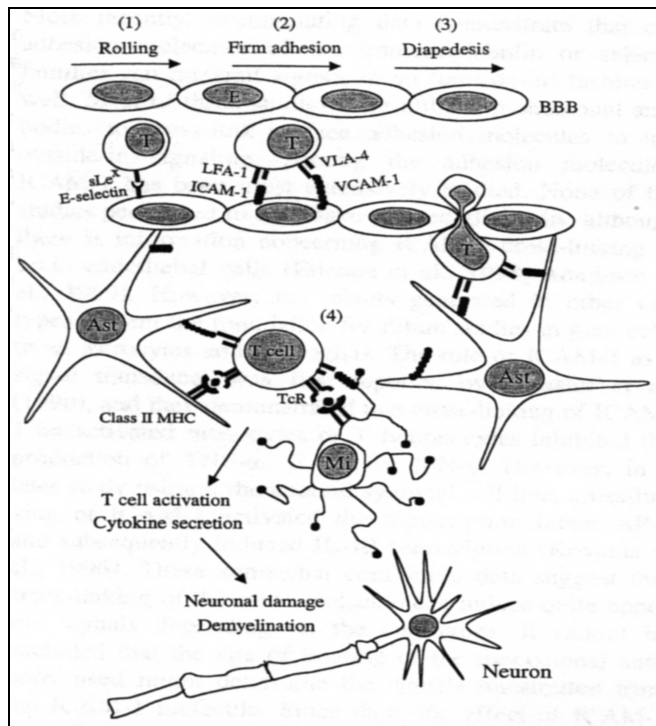


Abbildung 1. 6: Transendotheliale Migration der T-Zellen durch die Blut-Hirn-Schranke, aus Adhesion molecule expression and regulation on cells of the central nervous system, Lee et al, J Neuroimmunol 1999.¹¹⁶

1.2 Grundlagen der gemessenen Parameter

1.2.1 Bedeutung der Zelladhäsionsmoleküle

Die Zelladhäsionsmoleküle sind Zelloberflächenstrukturen, die für zahlreiche Schritte der Immunantwort verantwortlich sind. Am bekanntesten ist ihre Fähigkeit, Zell-Zell und Zell-extrazelluläre Matrix Interaktionen zu vermitteln, die für die Adhäsion und Migration von Leukozyten ins ZNS verantwortlich sind. Auf Grund ihrer Struktur teilt man sie in drei Familien auf: die Selektine (mit z.B. L-Selektin, E-Selektin, P-Selektin), die Immunglobulin Superfamilie (mit z.B. ICAM-1, PECAM-1, VCAM-1) und die Integrine (mit z.B. VLA-4 und LFA-1).^{117,118}

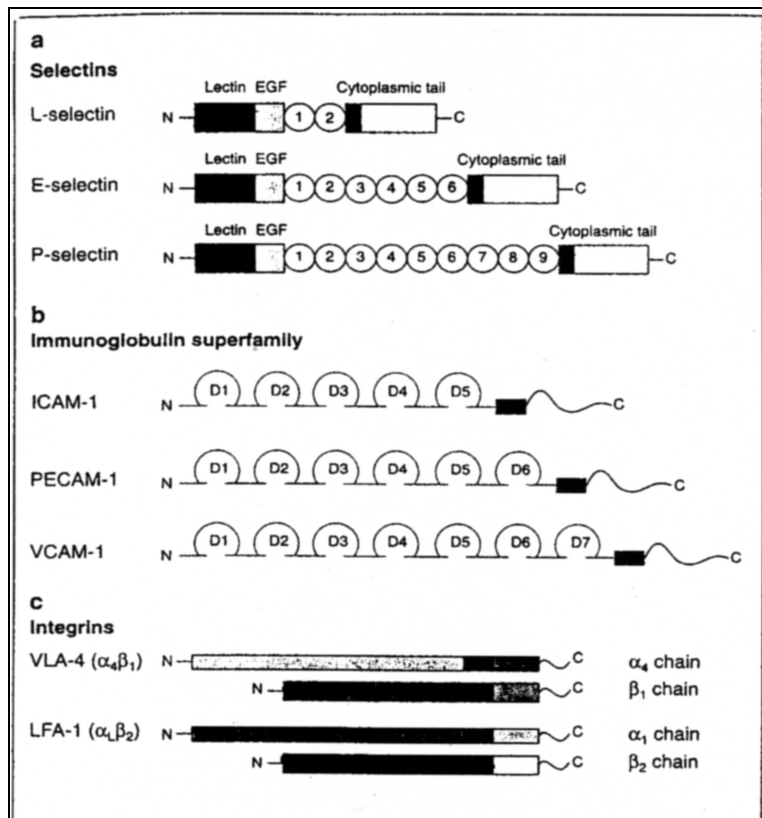


Abbildung 1.7: Strukturelle Charakteristika der Adhäsionsmoleküle, aus *The role of adhesion molecules in multiple sclerosis: biology, pathogenesis and therapeutic implications*, Archelos und Hartung, *Molecular Medicine Today*, 1997.¹¹⁸

1.2.1.1 s-ICAM-1

ICAM-1, auch CD54 genannt, ist ein einfachkettiges 76-114 kD schweres Zelloberflächenglykoprotein, das fünf extrazelluläre Immunglobulin- ähnliche Domänen besitzt.¹¹⁹ ICAM-1 wird auf der Zelloberfläche von zahlreichen Zellen wie T- und B-Zellen, Gewebsmakrophagen und Monozyten exprimiert.¹¹⁸ Im ZNS von gesunden Individuen ist es nur auf den Endothelzellen von Mikrogefäßen nachgewiesen worden, wohingegen es in den Plaques von MS Patienten auch auf Astrozyten vorkommt.^{120,121} ICAM-1 ist durch inflammatorische Zytokine wie IL-1, TNF-alpha, TNF-beta und IFN-gamma innerhalb weniger Stunden auf Astrozyten und Oligodendrozyten herbeiführbar.¹¹⁶ Die bekannteste und wichtigste Aufgabe ist die Endothelzell- Leukozyten Interaktion, die die Anhaftung und Migration der Leukozyten zur Durchdringung der Hirnschranke bewirkt. Dazu bedient sich ICAM-1 seines Liganden, dem Leukozyten funktionsassoziierten Molekül 1 (LFA-1), der auf aktivierten Leukozyten präsentiert wird.^{110,122} ICAM-1 nimmt auch an der Leukozytenadhäsion außerhalb von Gefäßen teil und leitet die Aktivierung und Proliferation von T und B-Zellen ein.^{118,123}

ICAM-1 fungiert in löslicher Form sICAM-1 als Signalmolekül. Es blockiert z.B. die Anhaftung der Lymphozyten an die Gefäße des ZNS, oder es ist auch dazu fähig, die autoimmune T-Zellproliferation zu unterdrücken.^{124,125} sICAM-1 im Blut gilt als verlässlicher Marker für Entzündungsprozesse im ZNS, die mit einer Blut-Hirnschrankenstörung verbunden sind. Mehrere Studien berichten über eine positive Korrelation von erhöhter sICAM-1 Konzentration im Serum von MS-Patienten und ihrer Krankheitsaktivität.¹²⁶⁻¹²⁹

1.2.1.2 s-VCAM-1

VCAM-1, auch CD106 genannt, besteht aus sieben Immunglobulin- ähnlichen Domänen und wiegt nach kompletter Glykolysierung ca. 102 kD.¹³⁰ Es ist im gesunden normalem ZNS Gewebe nicht nachweisbar. Bei MS Patienten wird VCAM-1 auf Endothelzellen von Hirnkapillaren exprimiert und auf Mikrogliazellen in MS Plaques nachgewiesen.⁹³ VCAM-1 unterstützt die Adhäsion von Lymphozyten, Monozyten, NK-Zellen, Eosinophilen und Basophilen durch seine Interaktion mit VLA-4 (Leukozyten very late Antigen). Das VCAM-1/VLA-4 Zusammenspiel bedingt eine feste Anhaftung von zirkulierenden T-Lymphozyten an das Endothel als Grundvoraussetzung für eine transendotheliale Wanderung der Lymphozyten ins ZNS. sVCAM-1 kann schnell von aktivierten Endothelzellen, Lymphozyten oder Monozyten abgeworfen werden („shedding“) und ist dann als lösliche Form (sVCAM -1) auch im Serum von gesunden Patienten nachzuweisen. Erhöhte Spiegel wurden bei verschiedenen Erkrankungen nachgewiesen, wie bei diversen Karzinomen, Autoimmunerkrankungen, Infektionen, Entzündungen und auch signifikant erhöht bei der Multiplen Sklerose.^{111,118,131} Einige Studien berichten über einen signifikanten Anstieg von sVCAM-1 im Blut von MS Patienten.¹³²⁻¹³⁴ Weiterhin berichten sie von einem Konzentrationsanstieg des sVCAM-1 und gleichzeitiger Abnahme von MRT Läsionen unter Interferontherapie.¹³⁵⁻¹³⁷ sVCAM mag als Köder für VLA-4 auf T-Zellen funktionieren, der VLA-4 bindet und somit die Anheftung der T-Zellen an das Endothel der Hirnkapillaren hemmt.¹³⁶

1.2.2 Zytokine

Zytokine sind von Immunzellen und anderen Zellen, wie Astrozyten und Mikroglia, im ganzen Körper freigesetzte, niedrig molekular gewichtige Proteine, die auf parakrinem oder autokrinem Wege wirken können. Sie haben eine kurze Halbwertszeit, die für die recht schwierige

Nachweisbarkeit der Zytokine sowie eventuell auch für einige widersprüchliche Ergebnisse verschiedener Studien verantwortlich zu sein scheinen. Sie können nach ihrer Herkunft und ihrer Funktion in zwei große Klassen von Zytokinen eingeteilt werden. Th1-Zellen sezernieren hauptsächlich IFN-gamma, TNF-beta und IL-2 und regulieren somit die zelluläre Immunität. Die zweite Klasse sind die von Th2-Zellen produzierten Zytokine wie IL-4, IL-5 und IL-10, die die humorale und zum Teil auch zelluläre Immunität regulieren.

1.2.3 Bedeutung der TNF-Rezeptor-Familie

1.2.3.1 s-TNF-RI, s-TNF-RII und sTNF-beta

TNF-alpha, auch Kachektin genannt, und TNF-beta, auch Lymphotoxin genannt, sind proinflammatorische zytotoxische Zytokine der TNF-Familie und Mediatoren der körpereigenen Abwehr und der Immunregulation. TNF-alpha besteht aus einem 17kD Glykopeptid und wird von Makrophagen, T-Zellen, B-Zellen und Zellen des ZNS (Astrozyten und Mikrogliazellen) produziert. TNF-beta wird von T-Zellen und aktivierten Zellen des Nervensystems produziert.⁹⁰ TNF-alpha steuert bei Entzündungen und Infektionen unter anderem das Einwandern von Leukozyten. Bei der MS können TNF-alpha und TNF-beta in chronischen und akuten Läsionen im ZNS nachgewiesen werden.^{93,138} Beide können die Expression von ICAM-1 und VCAM-1 auf Zellen hochregulieren.⁹⁰

TNF-alpha wird als wesentlicher pathologischer Faktor bei verschiedenen Modellen der EAE angesehen und zahlreich in entzündlichen ZNS Läsionen nachgewiesen. Er beteiligt sich an der pathologischen Gewebsschädigung in aktiven Läsionen, ist in vitro zytotoxisch gegenüber Oligodendrozyten und ist wichtig für die Auslösung der Apoptose.^{93,138} Weiterhin wurde in einer Studie gezeigt, daß Interferon-beta die Konzentration von TNF-alpha bei MS Patienten herunterregulieren kann.¹³⁵

sTNF-beta wird von aktivierten Lymphozyten produziert und ist ein Glykoprotein von 25kD, bestehend aus einem 17,5 bis 18kD Polipeptidkern und einem 7kD N-linked Karbohydrat.¹³⁹ In einer Studie wurden erhöhte Konzentrationen von TNF-beta während eines akuten MS Schubes nachgewiesen.¹⁴⁰

Sowohl TNF-alpha als auch TNF-beta geben ihre Signale über zwei strukturell ähnliche, aber funktionell unterschiedliche Rezeptoren, dem TNF-RI-p55 und dem TNF-RII-p75, weiter.¹⁴¹ Diese Rezeptoren werden auf den meisten Zelltypen meist gleichzeitig exprimiert. Sie lösen Signale für die Zellproliferation und die Apoptose aus, die für die Immunantworten und für die

normale Entwicklung wichtig sind.^{141,142} Dieser Vorgang wird, wie die meisten biologischen Antworten, über den TNF-RI-p55 vermittelt, da er die Liganden mit einer höheren Affinität bindet als TNF-RII-p75.^{141,143,144} Beide membrangebundenen Rezeptoren werden durch Proteolyse, eventuell durch Matrixmetalloproteinasen, während einer Entzündung von der Zelloberfläche abgestoßen (sog. „shedding“) und liegen dann in freier Form vor.¹⁴⁵

sTNF-RI scheint eine Vielzahl von immunologischen Antworten und Entzündungswegen zu steuern. sTNF-RII kann ihm als „Ko-Rezeptor“ dienen, der TNF-alpha bindet und zum TNF-RI leitet. Es konnte aber auch in einer Studie gezeigt werden, daß die sTNF-Rezeptoren die proinflammatorische und zytotoxische Wirkung des TNF-alpha hemmen können. Dies geschieht vermutlich durch die Bindung der sTNF-Rezeptoren an den TNF-alpha.¹⁴⁴

Die Gabe von löslichem TNF-Rezeptor zeigt an diversen EAE Modellen deutlich positive Effekte auf den Krankheitsverlauf und die Demyelinisierung. Es wurde demonstriert, daß die löslichen TNF-Rezeptoren den Effekt von TNF-alpha hemmen bzw. sogar antagonisieren können.^{146,147} Mehrere Studien weisen eine Korrelation von TNF Spiegeln im Blut, Serum oder Liquor mit dem klinischen Verlauf der Krankheitsaktivität nach.¹⁴⁸⁻¹⁵² Erhöhte Serumkonzentrationen von sTNF-RI und sTNF-RII wurden im akuten Schub der MS sowie bei der SPMS nachgewiesen.¹⁵³ Unter anderem wurde ein signifikanter Anstieg von sTNF-RI nach sieben Tagen und ein vorübergehender Anstieg von sTNF-RII 24Std nach Therapiebeginn bei MS Patienten unter Interferon-beta beobachtet.^{135,154}

1.2.4 Bedeutung von s-IL4R

IL-4 ist ein pleiotropes Zytokin, das von einigen peripheren T-Zell Subpopulationen produziert wird und zahlreiche modulierende Funktionen auf die Immunantwort hat. IL-4 wird vorzugsweise von Th2-Zellen produziert und hilft B-Zellen, sich in Ak-produzierende Zellen zu entwickeln. Weiterhin hemmt es die INF-gamma und TNF-beta produzierenden Th1-Zellen und verringert somit die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen.^{90,155} Die Läsionen im ZNS bei MS Patienten beinhalten IL-4, und im Blut von MS-Patienten gibt es vermehrt IL-4 produzierende Zellen sowie IL-4mRNA exprimierende MNC. Bislang wurde aber keine Korrelation zwischen der IL-4 Konzentration und der MS Aktivität gefunden.⁹⁰

Seine biologische Aktivität wird über spezifische Zelloberflächenrezeptoren wie dem IL-4R, ein Mitglied der Hematopoietin Receptor Superfamily, gesteuert.^{155,156} Der IL-4R ist ein 140kD transmembranöses Glykoprotein und besteht aus 800 Aminosäureresten, von denen 207 extrazellulär, 24 in der Zellmembran und 569 Domäne intrazellulär liegen. Es gibt aber auch eine

natürliche lösliche Form des IL-4R, den sIL-4R, der in menschlichem Serum nachgewiesen wurde, aus der extrazellulären Domäne des membrangebundenen IL-4R besteht und zusätzlich eine C-terminalen Peptidsequenz besitzt.^{157,158}

Die Produktion des sIL-4R erfolgt beim Menschen scheinbar ausschließlich durch „shedding“ der membrangebundenen Form von der Zelloberfläche. Sie wird durch TCR Stimuli, IL-4 und INF-gamma reguliert und braucht dazu Metalloproteinasen.^{155,159} Das IL-4 bindet den membrangebundenen und den löslichen IL-4R (sIL-4R) mit gleicher Affinität.¹⁵⁶

Der menschliche rekombinante sIL-4R zeigt in einer Studie eine dosisabhängige Komplexbildung mit IL-4 in aktivierten T-Zellen. Niedrige Konzentrationen von sIL-4R fördern die IL-4 gesteuerte Hemmung der INF-gamma Produktion von aktivierten T-Zellen. Hohe Konzentrationen neutralisieren IL-4, und die IFN-gamma Produktion von aktivierten T-Zellen steigt. In ungebundener Form wird der IL-4 relativ rasch proteolytisch abgebaut. Der sIL-4R dient dem IL-4 als Carrier und verlängert so seine Halbwertszeit. Auch nach längerer Zeit kann der sIL-4R das IL-4 in funktionsfähigem Zustand wieder freilassen.^{155,160}

Eine weitere Studie fand heraus, daß bei 37°C die Dissoziation des IL-4 von dem sIL-4R schnell und von dem membrangebundenen IL-4R langsam ist.¹⁶¹

Fanslow et. al zeigte zum ersten Mal, daß der sIL-4R, in pharmakologischen Dosen appliziert, als kompetitiver Hemmer des IL-4 genutzt werden kann.¹⁶²

1.3 Interferone

Interferone sind natürlich vorkommende, vom Körper produzierte Zytokine. Die Gruppe der Typ I Interferone bilden das INF-alpha, das IFN-beta und das weniger bekannte INF-omega. Die Gruppe der Typ II Interferone bildet alleine das IFN-gamma. Interferone binden an spezifischen Oberflächenrezeptoren und lösen dort eine Reihe von Signalkaskaden aus, die zu einer Sekretion von antiviralen, antiproliferativen und immunregulierenden Genprodukten führt. Typ I Interferone werden hauptsächlich von Fibroblasten produziert und besitzen starke antiinflammatorische, dem Interferon-gamma entgegenwirkende Fähigkeiten, wohingegen das Typ II Interferon-gamma hauptsächlich von Zellen des Immunsystems produziert wird und merklich die inflammatorische Antwort von T-Lymphozyten und natürlichen Killerzellen hochreguliert.

Interferon-Typ	alpha	beta	gamma
Anzahl der Interferone	15	1	1
Molekulargewicht	ca. 19000 d	ca. 24000 d	ca. 45000 d (Dimer)
Chromosom	9	9	12
Rezeptortyp	I	I	II
Induktion durch:	-Viren -bakterielle Produkte -synthetische Induzenten	-Viren -bakterielle Produkte -synthetische Induzenten	-T-Zell Mitogene -Antigene
Produzierende Zellen:	-Leukozyten -Fibroblasten -weitere Zellen	-Leukozyten -Fibroblasten -weitere Zellen	-CD4+ Th1-Zellen -CD8+ T-Zellen -NK-Zellen

Tabelle 1.6: Einteilung der Interferone.¹⁶³ (modifiziert nach H. Jacobsen, 1990 und Janeway, Travers et al., 2001)

Die durch rekombinante DNA Technik hergestellten Typ I Interferone, IFN-beta-1a und IFN-beta-1b werden für die Therapie der MS genutzt. Ihr Unterschied zur natürlichen Form besteht darin, daß INF-beta-1a glykolysiert ist und beim INF-beta-1b an Position 17 die Aminosäure Cystein gegen Serin ausgetauscht ist und das terminale Methionin fehlt.^{164,165} Interferon-gamma wurde kurzzeitig auch in Therapiestudien bei MS angewandt, wobei sich aber eine signifikante Erhöhung der Schubrate feststellen ließ und entsprechende Studien deshalb abgebrochen wurden.¹⁶⁶

Als IFN-beta 1b Präparate steht zur Zeit Betaferon® (Schering AG, Berlin, Deutschland) zur Verfügung und als IFN-beta 1a Präparate Avonex® (Biogen, Cambridge, MA) und Rebif® (Serono Pharmazeutika, Genf, Schweiz). Im Folgenden werden nur die Präparate näher behandelt, die in dieser Arbeit betrachtet wurden.

1.4 Wirkung der Interferon-beta Präparate bei MS-Patienten

Zahlreiche in vitro und in vivo Studien, besonders an Tiermodellen, geben Aufschluß über verschiedene mögliche Wirkmechanismen von Interferon-beta bei der MS. Interferon-beta scheint den proinflammatorischen Effekten von INF-gamma, z.B. durch kompetitive Hemmung an Signal und Transkriptionsfaktoren, entgegenwirken zu können.¹⁶⁷

IFN-beta kann das Gleichgewicht zu Gunsten der antiinflammatorischen Zytokinen entweder durch Hemmung der Th1-Zell oder durch Verstärkung der Th2-Zell Zytokinproduktion kippen.¹⁶⁸ Die durch IFN-beta induzierte Hemmung der HLA-Klasse II Expression auf Endothelzellen, die auch eine Ligandenfunktion auf T-Zellen ausübt, behindert die T-Zell/Endothelzelladhäsion.¹⁶⁹

INF-beta hemmt auch die Matrixmetalloproteinase 9 (MMP9), die von aktivierten T-Zellen sezerniert wird, eine Andauung der Basalmembran induziert und somit den T-Zellen erleichtert, in das ZNS einzuwandern.^{115,170,171}

Es ist möglich, daß an der Pathogenese der MS ein Virus beteiligt ist, wobei INF-beta dann durch seine antivirale Wirkung einen zusätzlichen therapeutischen Effekt hätte.^{172,173}

In Studien über die MS wurde gezeigt, daß bei fast 90% der Patienten, die mit INF-beta behandelt wurden, es zu einer schnellen und stabilen Abnahme der Anzahl von Gadolinium anreichernden Herde gekommen ist. Gadolinium-anreichernde Herde im ZNS stehen für eine Störung der Blut-Hirn-Schranke im akuten Entzündungsprozeß.^{174,175,176}

1.4.1 Interferon-beta 1b (Betaferon)

In einer zwei- bis fünfjährigen double-blind Studie, bei der 372 Patienten teilnahmen, ein Teil der Patienten alle zwei Tage subkutan 8 MIU bzw. 1,6 MIU IFN-beta 1b bekam und eine dritte Gruppe an Stelle dessen ein Placebo erhielt, reduzierte sich die Schubrate der höher dosierten Therapiegruppe um 1/3. Die Schwere der Schübe war ebenfalls vermindert. Es zeigte sich eine deutliche Dosisabhängigkeit zu Gunsten der höheren Dosis in Bezug auf die Schübe und die MRT Läsionen. In beiden Behandlungsgruppen verminderten sich im MRT das Erscheinen von neuen Läsionen sowie die Vergrößerung schon bestehender Läsionen. Es gab keinen signifikanten Trend, daß durch die Therapie das Fortschreiten der Krankheit verlangsamt wurde.^{60,67,177} In einer anderen Studie, die hauptsächlich SPMS Patienten untersuchte, zeigte Betaferon hingegen eine deutliche Verlangsamung der Krankheitsprogression sowie einen signifikanten Effekt auf die Reduktion der Schubfrequenz und der Läsionen in der T2-gewichteten Kernspintomographie.^{62,178}

1.4.2 Interferon-beta 1a (Rebif)

In einer zwei- bis vierjährigen Placebo kontrollierten Studie (PRISMS) wurden eine niedrige und eine höhere Dosis von Rebif (6 MIU und 12 MIU i.c. dreimal pro Woche) verglichen.^{179,180} Auch hier gab es eine dosisabhängige Wirksamkeit zu Gunsten der höheren Dosis. Die höhere Dosis erbrachte eine stärkere Reduktion der Schübe, und die Schubrate verminderte sich um 37% im ersten und um 32% im zweiten Jahr. Es kam außerdem zu einer statistisch signifikanten

Verlangsamung der Krankheitsprogression bei Patienten mit einem EDSS >3,5. Auch hier, bevorzugt bei der höheren Dosierung, verminderten sich im MRT das Erscheinen von neuen Läsionen sowie die Vergrößerung schon bestehender Läsionen.^{41,181,182} Nebenbei entwickelten die Patienten unter der niedrigeren Dosis häufiger Interferon-beta neutralisierende Antikörper als unter der Hochdosistherapie. Die ETOMS Studie zeigte, daß ein frühzeitiger Therapiebeginn schon nach dem ersten Schub den Krankheitsbeginn der MS verzögerte.¹⁸⁰ Die OWIMS Studie und andere zeigten, daß die zwei- bis dreimalige Gabe von Interferon-beta 1a eine bessere biologische Aktivität besitzt und einen größeren Schubrückgang zur Folge hat als die einmalige Gabe des Interferons.^{63,183,184}

Bei SPMS Patienten im Anfangsstadium der Erkrankung, die noch schubförmige Verläufe haben, konnte Rebif die Krankheitsprogression verlangsamen. SPMS Patienten im fortgeschrittenen Stadium profitieren nicht mehr von der Therapie.¹⁸⁵

Handelsname	Betaferon	Rebif	Avonex	Copaxone
Wirkstoff	IFN-beta 1b	IFN-beta 1a	IFN-beta 1a	Glatirameracetat
Dosis	250µg	44 oder 22µg	30µg	20µg
Applikation	SC	SC	IM	SC
Applikationshäufigkeit	jeden 2. Tag	3mal/Woche	1mal/Woche	täglich
Nebenwirkungen	gripp.- Syptome lok. Reaktion Lymphopenie Leberenzym erhöh.	gripp.- Syptome lok. Reaktion Lymphopenie Leberenzym erhöh.	gripp.- Syptome Lymphopenie Leberenzym erhöh.	lok. Reaktion vor. Angstzust. Druck a. Brust Errötung
Schubrate	34% verm.	32% u. 29% verm.	18% verm.	29% verm.
bestätigte Progression (1Punkt im EDSS)	nur ansatzweise	signifikante Verzög. mit beiden Dosen	signifikante Verzög.	nur ansatzweise
MRT- Aktivität	starke u. signif. Verminderung	starke u. signif. Verminderung	signifikante Verminderung	verspäteter Effekt aber signif. Verminderung

Tabelle 1.7: Aktuelle, krankheitsmodifizierende Wirkstoffe der MS, Übersetzt aus MacLean, H.J. Immunologic Therapy for Relapsing-Remitting Multiple Sklerosis, Curr. Neurol. Neurosci. Reports 2001.¹⁸⁶

Abkürzungen: SC = subkutan, IM = intramuskulär,

gripp.- Symptome = grippeähnliche Symptome, lok. Reaktion = lokale Reaktion an der Einstichstelle, Leberenzym erhöh = Leberenzymhöhung, vor. Angstzust. = vorübergehende Angstzustände,

Druck a. Brust = Druck auf der Brust,

verm. = vermindert, Verzög. = Verzögerung, signif. = signifikante

1.5 Zielsetzung

Ausgehend von der Bedeutung der Immunpathogenese der MS wurden in dieser Arbeit über einen Zeitraum von bis zu zwei Jahren MS Patienten beobachtet und aus den dreimonatlich gewonnenen Serumproben multiple Immunparameter (sICAM-1, sVCAM-1, sTNF-RI, sTNF-RII, sTNF-beta und sIL4-R) untersucht. Diese gemessenen Immunparameter wurden daraufhin überprüft, ob es einen Unterschied gibt in ihrer Konstellation zwischen gesunden Probanden und MS kranken Patienten, die zusätzlich unterteilt wurden in RRMS und SPMS Patienten. Darüber hinaus wurde untersucht, inwiefern sich eine immunmodulatorische Therapie mittels Rebif oder Betaferon auf die Immunparameter auswirkt. Im Anschluß an Untersuchungen der Gießener Arbeitsgruppe für Neuroimmunologie, die unter anderem einen Anstieg der Adhäsionsmoleküle und der TNF-Rezeptoren unter Betaferon nachweisen konnte²⁰⁶, werden in dieser Arbeit erstmalig zwei verschiedene Interferone (Rebif und Betaferon) getestet. Hierzu wurde auch das Verhalten des sIL4-R, der bislang noch nicht geprüft wurde, in allen Patientenkollektiven beobachtet. Erstmalig wurde an einem SPMS Patientenkollektiv geprüft, welche Auswirkung die Betaferontherapie auf die Immunparameter hat.

Übergeordnetes Vorhaben der Untersuchungen war es, weitere Erkenntnisse über die Immunpathogenese der Multiplen Sklerose zu gewinnen sowie ein Versuch, an Hand der Immunparameter tendenziell, vor oder zu Beginn der Therapie, einen Therapieresponder von einem Nonresponder differenzieren zu können.

Zielsetzung der Studie war insbesondere die Beantwortung folgender Fragen:

1. Inwieweit unterscheiden sich gesunde, nicht an MS erkrankte Menschen von MS kranken Menschen in ihrer Immunparameterkonstellation? Gibt es diesbezüglich Unterschiede zwischen RRMS und SPMS und wie ist der spontane Verlauf?
2. Inwieweit ändern sich die Immunparameter, der EDSS-Score und die Schubfrequenz unter einer Interferontherapie?
3. Wie verhalten sich die Immunparameter und der EDSS-Score über einen längeren Zeitraum von zwei Jahren bei RRMS Patienten unter einer Immuntherapie mit Betaferon?
4. Gibt es Unterschiede in der Verträglichkeit von Rebif und Betaferon hinsichtlich Wirkung und Nebenwirkung?
5. Können die immunologischen Parameter als prognostischer Wert für den Therapieerfolg eingesetzt werden?

2 Material und Methoden

2.1 Patienten und Studienaufbau

Alle im Rahmen der Studie untersuchten MS Patienten sowie das Gesundenkollektiv wurden vor Aufnahme über die Teilnahme an einer wissenschaftlichen Studie aufgeklärt. Es bestanden keinerlei Nachteile für jeden einzelnen Patienten hinsichtlich Betreuung und Therapie, wenn die Teilnahme an dieser Studie abgelehnt wurde.

Die klinischen Daten der Patienten wurden nur verwendet, und das Blut wurde nur für die Studie weiter verarbeitet und gemessen, wenn die Personen ihr ausdrückliches Einverständnis dafür gegeben hatten. Die durchgeführten Blutentnahmen bei der Erstuntersuchung sowie die regelmäßigen Blutkontrollen der mit Interferonen therapierten Patienten waren im Rahmen der Diagnostik des jeweiligen Patienten erforderlich. Lediglich die Blutentnahmen des Gesundenkollektivs und die dreimonatlichen Kontrollen der untherapierten Patienten waren zusätzlich im Rahmen der Studie. Für diese freiwilligen Blutabnahmen war ebenfalls jeweils das ausdrückliche Einverständnis der Person erforderlich.

96 Multiple Sklerose Patienten wurden zur Untersuchung der immunologischen und klinischen Effekte einer Behandlung mit rekombinantem Interferon beta-1b (Betaferon) bzw. mit rekombinantem Interferon beta-1a (Rebif) in einer offenen, kontrollierten, nicht-randomisierten klinischen Studie über einen Zeitraum von August 1998 bis August 2001 beobachtet.

Ebenfalls wurden einmalige Blutproben von 20 gesunden, nicht an MS erkrankten Personen in den Jahren 2000 und 2001 entnommen.

Von den 96 an MS erkrankten Patienten hatten 79 eine RRMS und 17 eine SPMS, wobei die SPMS-Patienten ausschließlich mit Betaferon behandelt wurden.

50 der RRMS Patienten blieben zunächst untherapiert, von denen nach einem Jahr 13 Patienten mit Rebif und drei mit Betaferon therapiert wurden.

14 der RRMS Patienten erhielten über ein Jahr primär eine Therapie mit Rebif und 15 der RRMS Patienten primär eine Therapie mit Betaferon. Das Einschlußkriterium für eine Therapie mit Interferon war erfüllt, wenn der Patient in den letzten zwei Jahren mindestens zwei Schübe hatte. Welches Präparat der Patient zur Therapie anwenden wollte, konnte er nach einem individuellen Gespräch selbst entscheiden.

Aus den RRMS Patienten entstanden somit drei Gruppen: Untherapierte, mit Rebif und mit Betaferon behandelte Patienten, die über einen Zeitraum von einem Jahr beobachtet wurden.

Lediglich die RRMS Patienten unter Betaferon wurden über zwei Jahre beobachtet und bildeten so erneut eine Gruppe.

Von jedem Patienten wurden am Studieneintrittstag vor eventuellem Therapiebeginn die Laborparameter (sICAM-1, sVCAM-1, TNF-RI, TNF-RII, TNF-beta und sIL-4R), das Geschlecht, das Alter, das Alter bei Erstdiagnose der MS, die Dauer der Erkrankung, Begleiterkrankungen, Medikamenteneinnahme der begleitenden Erkrankung, der EDSS-Score, die Anzahl früherer Schübe (mehr als zwei Jahre her), die Schübe in den letzten zwei Jahren, die maximale Schubdauer in den letzten zwei Jahren und die Kortisontherapie in den letzten zwei Jahren erhoben. Dieser Tag entspricht dem Zeitpunkt V0, der für jeden Patienten einmalig festgelegt wurde. Es erfolgten weitere Termine im Abstand von je drei Monaten (V1, V2, V3 und V4), an denen erneut Blut für die Meßparameter entnommen wurde, Schübe (einschließlich ihrer Dauer und eventueller Kortisontherapie), die Nebenwirkungen auf die Interferone (wie grippale Symptome oder Lokalreaktionen an der Einstichstelle) und der EDSS-Score dokumentiert wurden.

Für die RRMS Gruppe unter Betaferon wurde, mit dem einzigen Unterschied des längeren Beobachtungszeitraumes von zwei Jahren, gleichermaßen verfahren. (V1, V2, V3, V4, V5, V6, V7 und V8)

Da die vorliegende klinische Studie auf die freiwillige Teilnahme der Probanden angewiesen war, konnten Studienabbrüche einzelner Patienten nicht ausgeschlossen werden.

Die nachstehende Tabelle zeigt die Anzahl der individuellen Studienabbrüche vor dem Untersuchungszeitpunkt V4. Therapiewechsler sind mit aufgeführt.

Letzte Visite	RR-MS untherapiert	RR-MS Rebif	RR-MS Betaferon	SP-MS Betaferon
gesamte Anzahl der Patienten	50	27	18	17
Abbrüche in: V1	0	0	0	0
V2	12 (24,0%)	2 (7,4%)	0	1 (5,9%)
V3	17 (34,0%)	2 (7,4%)	0	2 (11,8%)

Tabelle 2.1: Patienten die innerhalb des ersten Jahres die Studie abbrachen

Für die Verlaufsdarstellung der gemessenen Parameter ist es erforderlich, fehlende Zwischenkontrollen sowie punktuell fehlende Erhebungen bei noch unter Beobachtung stehenden Patienten gemäß „Last Observation Carried Forward“ zu ergänzen. Fehlende Vorwerte (V0) können demgegenüber nicht ersetzt werden, da sich bei hoher intra- und interindividueller Variabilität der Labordaten keine geeignete „Ersatzstrategie“ anbietet. Somit entfallen Patienten mit fehlenden Vorbefunden für Analysen, die auf die Vorwerte Bezug nehmen.

Die beim Test des sIL-4R vermehrt fehlenden Daten beruhen auf der Tatsache, daß dieser Test zuletzt durchgeführt wurde. Somit wurden einige Patientenproben durch vorangegangene Tests aufgebraucht und standen dem sIL-4R Test nicht mehr zur Verfügung. Das erneute Einfrieren bereits aufgetauter Proben für Messungen im Rahmen weiterer Tests wurde nicht praktiziert, da die Zytokinkonzentrationen dadurch künstlich verändert werden könnten.

Parameter	RR-MS untherapiert	RR-MS Rebif	RR-MS Betaferon	SP-MS Betaferon
Pat. ges. pro Gruppe	50	27	18	17
davon Wechsler	16	13	3	
sICAM-1, sVCAM-1, TNF-RI, TNF-RII				
komplett fehlende Befunde	1	0	0	0
fehlender Vorbefund	0	1	1	1
fehlender Vorbefund + 1. Kontrolle	1	0	0	0
Last Observation Carried Forward	9	3	5	3
komplette Daten incl. Wechsler	39	23	12	13
TNF-beta				
komplett fehlende Befunde	1	0	0	0
fehlender Vorbefund	0	1	1	1
fehlender Vorbefund + 1. Kontrolle	1	0	0	0
Last Observation Carried Forward	10	3	5	3
komplette Daten incl. Wechsler	38	23	12	13
s-IL-4R				
komplett fehlende Befunde	10	3	3	0
fehlender Vorbefund	2	1	1	1
fehlender Vorbefund + 1. Kontrolle	0	0	0	0
Last Observation Carried Forward	11	7	8	3
komplette Daten incl. Wechsler	27	16	6	13

Tabelle 2.2: Anzahl der Patienten mit fehlenden Vorbefunden bzw. folgenden Werten im Verlauf der gesamten Erhebung

2.2 Probenmaterial

Die alle drei Monate gewonnenen Serum- bzw. Plasmaproben wurden direkt nach Entnahme zentrifugiert und in Aliquots von 300-600µl bei -20 bis -70 °C gelagert. An dem Abend vor Testbeginn wurden die zu messenden Proben langsam im Kühlschrank aufgetaut und kurz vor Testbeginn auf Raumtemperatur erwärmt. Die weitere Aufbewahrung erfolgte im Kühlschrank. Sofern am darauf folgenden Tag keine Nachmessungen erforderlich waren, wurden die Proben verworfen. Bei dieser in vielen Labors allgemein angewandten Behandlung der Proben wurden bislang keine gravierenden Einflüsse auf die Konzentration der Zytokine, der Adhäsionsmoleküle oder der TNF-Rezeptoren beschrieben.

2.2.1 Prinzip des ELISA

Der ELISA „enzyme-linked immunosorbent assay“ ist eine quantitative, serologische Nachweismethode für Antigene (Ag) oder Antikörper (Ak), die auf Kopplung mit einem Enzym beruht. Durch die Benutzung von Ak oder Ag als molekulare Sonden wurden zahlreiche empfindliche und hochspezifische Methoden entwickelt, mit denen sich engverwandte Proteine leicht voneinander abgrenzen und spezifisch nachweisen lassen. Die Methode ist, nicht zuletzt durch die einfache und relativ ungefährliche Handhabung, ein gut standardisiertes und reproduzierbares Verfahren.

In dieser Arbeit wurden die Konzentrationen der löslichen TNF-Rezeptoren (s-TNF-RI, s-TNF-RII), der Zytokine (s-TNF-beta, s-IL-4R) und der löslichen Adhäsionsmoleküle (sICAM-1, sVCAM-1) aus Patientenserum mittels kommerziell erwerblichen Sandwich-ELISA`s bestimmt. Zuerst erfolgt die Beschichtung eines festen Trägers (z.B. die Vertiefungen -„Wells“- einer Mikrotiterplatte) mit einem bestimmten unmarkierten Ak, der gegen das zu messende Protein gerichtet ist. Nachdem die überschüssigen ungebundenen Ak herausgewaschen wurden, verhindert die Inkubation des Trägers mit einer albuminhaltigen Lösung eine unspezifische Bindung weiterer Ak an den Träger. Die Serumprobe mit der zu messenden unbekannten Zytokinkonzentration, die Standards und die Kontrollen mit bereits bekannter Antigenkonzentration werden zusammen mit einem für das Protein spezifischen, monoklonalen, mit Biotinyl markierten Ak auf den beschichteten Träger pipettiert. Nach einer testspezifischen einheitlichen Inkubationszeit werden die ungebundenen überschüssigen Proteine und Ak durch Waschen entfernt. Nun ist das zu untersuchende Protein wie ein Sandwich zwischen den am Boden haftenden unmarkierten Ak und dem markierten Ak eingeschlossen.

Das Enzym Streptavidin-Peroxidase bindet sich spezifisch an das Biotinyl und wird mittels einem Katalysator, dem Tetramethylbenzidin (TMB), von einem farblosen Substrat in ein farbiges Produkt umgewandelt. Diese enzymabhängige Reaktion wird mittels Säure (z.B. Schwefelsäure) gestoppt. Die Intensität der Farbe, die proportional zu der Proteinkonzentration ist, wird mittels eines Mehrkanalspektrometers bestimmt. Durch den Vergleich der Extinktionen der Standards, dessen Konzentrationen bekannt sind, mit der Extinktion des Proteins der zu messenden Probe läßt sich die Proteinkonzentration der Probe berechnen.

2.2.2 Testablauf

Der Test wurde vollständig nach den Angaben des Herstellers durchgeführt. Veränderungen zum Erreichen genauerer Testergebnisse wurden nur nach Rücksprache mit dem Hersteller vorgenommen.

Um bei niedriger Konzentration der Serumproben von TNF-beta die Sensitivität des Tests zu erhöhen, wurde ein weiterer Verdünnungsschritt in der Standardverdünnungsreihe von TNF-beta mit einer Konzentration von 8pg/ml eingeführt. Der vom Hersteller als untere Nachweisgrenze angegebene Wert wurde dabei nicht unterschritten.

Proben, die oberhalb der Nachweisgrenze lagen, wurden in einer höheren Verdünnung gemessen.

Zur genauen Quantifizierung der Testergebnisse wurden bei jedem Test der Standard, der Blank, die Kontrollen, der Pool und alle Patientenproben mit Doppelbestimmungen durchgeführt. Der Mittelwert der Doppelbestimmungen dient der Berechnungsgrundlage des Testes.

Die Inkubationszeit mit TMB wurde bei jedem Test individuell festgelegt, wobei sich die Inkubationszeit nach der Extinktion des größten Standards der Lösung gerichtet hat. Vor Beenden der Reaktion mittels Schwefelsäure wurden Blaumessungen in fünfminütigen Abständen durchgeführt, um die testartspezifische Extinktion zu erreichen. War die Extinktion erreicht, wurde die Reaktion mittels säurehaltigem Stopreagenz beendet. In Vorversuchen hat sich dies als geeignetes Verfahren erwiesen, um eine bessere Vergleichbarkeit der Testergebnisse zu erlangen und um bei niedrigen Konzentrationen der zu messenden Probe die Sensitivität zu erhöhen.

Für die Meßparameter von s-TNF-RI, s-TNF-RII, TNF-beta, s-ICAM-1 und sVCAM-1 wurden ausschließlich Serumproben gemessen. Unterschiedliche Meßwerte, die durch unterschiedliches Probenmaterial entstanden sein könnten, wurden somit ausgeschlossen. Für die Bestimmung von s-IL-4R wurde aus Probenmangel sowohl Serum als auch Plasma verwendet. Die Serumproben wurden in einer 1:4 Verdünnung eingesetzt, wohingegen die Plasmaproben, auf die zurückgegriffen wurde, wenn keine Serumproben mehr vorhanden waren, unverdünnt gemessen wurden. Die im Plasma ermittelten sIL-4R Konzentrationen wurden anschließend mit dem Faktor vier multipliziert, um sie den Serumproben anzupassen.

Die Konzentrationen des sIL-4R wurden durch ein Fertigkit von Diaclone ermittelt.

Bei jedem Test wurde immer ein bestimmter Pool mitgemessen, um die Schwankungsbreite der Tests einzuschätzen und um bei großer Schwankung den Test zu wiederholen. Dieser Pool stammt aus zahlreichen zusammengegebenen Seren von mehreren an einer Sepsis erkrankten Patienten. Sie wurden im gleichen Gang mit der für die diagnostisch vorgesehene Blutabnahme

entnommen. Vor der Blutabnahme wurde selbstverständlich das ausdrückliche Einverständnis der Person eingeholt. Für s-TNF-RI und s-TNF-RII gab es zusätzlich je eine Kontrolle (Lösung mit bekannter Konzentration), die in jedem Test mitgemessen wurde. Als Inter-Assay und Intra-Assay Präzision diente der in allen Tests mitgemessene Pool.

Für alle sechs Tests ist im folgendem der Variationskoeffizient der Intra-Assay Präzision und der Inter-Assay Präzision dargestellt.

Die Intra-Assay Präzision liegt bei den CytoSets von Biosource für sTNF-RI bei einem CV= 2,2% ([n=10]: Mittelwert \pm SD: 1049 pg/ml \pm 22,90), für sTNF-RII bei einem CV= 1,2% ([n=10]: 3404,71 pg/ml \pm 41,78), bei den ModuleSets von Bender MedSystem für sTNF-beta bei einem CV= 13,2% ([n=9]: 289,56 pg/ml \pm 38,30), für den sICAM-1 bei einem CV= 6,8% ([n=6]: 695 ng/ml \pm 47,45), für den sVCAM-1 bei einem CV= 3,3% ([n=10]: 1039,98 ng/ml \pm 33,85) und bei Diaclone für den sIL-4R bei einem CV= 4,4% ([n=8]: 755,52 pg/ml \pm 33,27).

Die Inter-Assay Präzision liegt bei den CytoSets von Biosource für sTNF-RI bei einem CV=11,3% ([n=6]: Mittelwert \pm SD: 1165,99 pg/ml \pm 132,27), für sTNF-RII bei einem CV= 4,5% ([n=8]: 3269,10 pg/ml \pm 145,38), bei den ModuleSets von Bender MedSystem für sTNF-beta bei einem CV= 10,5% ([n=9]: 244,99 pg/ml \pm 25,77), für den sICAM-1 bei einem CV= 21,8% ([n=6]: 751,20 ng/ml \pm 163,71), für den sVCAM-1 bei einem CV= 7,2% ([n=10]: 1034,48 ng/ml \pm 73,97) und bei Diaclone für den sIL-4R bei einem CV= 7,3% ([n=12]: 809,18 pg/ml \pm 59,12).

Der Pool für die Inter- und Intra-Assay Präzisionen wurden zusammen mit den Patientenproben bei -20°C bis zur Messung aufbewahrt. Somit wurden mögliche Veränderungen des Probenmaterials auf Grund der Umgebungsbedingungen oder der Lagerungszeiten weitmöglichst ausgeschlossen.

3 Ergebnisse

3.1 Homogenitätsprüfung der zu vergleichenden Gruppen

3.1.1 Multiple Sklerose Patienten versus Gesundenkollektiv

Bezüglich des Geschlechtes und des Alters differieren die 96 MS-Patienten gegenüber den 20 gesunden Personen nicht wesentlich. In dieser Studie sind die MS Patienten zu 19,8% männlich und zu 80,2% weiblich. Das Gesundenkollektiv besteht zu 25% aus Männern und zu 75% aus Frauen. (s. Anhang Tabelle 3.1)

Das Gesundenkollektiv ist allerdings in der Altersgruppe $< \text{oder} = 30$ Jahren vergleichsweise stärker frequentiert, was zu einem geringeren medianen Alter in dieser Gruppe führt.

Ein Vergleich der gemessenen Parameter zwischen den MS-Patienten und dem Gesundenkollektiv ergab für sVCAM-1 und TNF-beta keine statistisch auffälligen Unterschiede. Deutlich erniedrigte Werte zeigten sich bei den MS Patienten für sICAM-1 und TNF-RI, lediglich leicht erniedrigte Werte für TNF-RII.

Der sIL-4R zeigte bei den MS Patienten im Vergleich zu den gesunden Probanden erhöhte Werte. (s. Anhang Tabelle 3.2)

Für den sIL-4R wurden in die Betrachtung 77 MS Patienten und 20 gesunde Probanden mit einbezogen, für die restlichen immunologischen Parameter 91 MS Patienten und 20 gesunde Probanden.

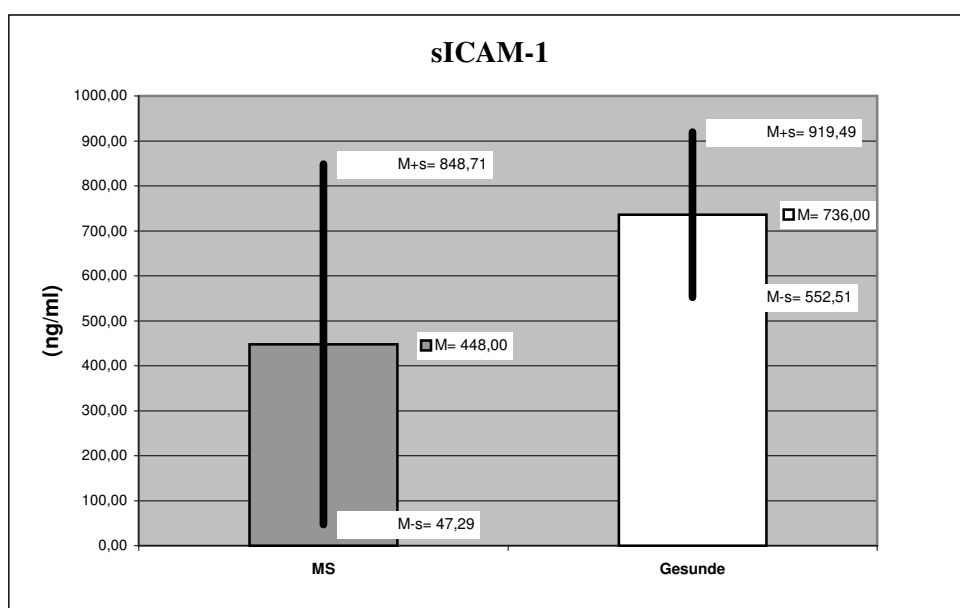


Diagramm 3.1: Unterschied in der Konzentration des sICAM-1 bei gesunden (Gesunde) und den an Multiple Sklerose (MS) erkrankten Personen vor Therapie; M= Mittelwert, s= Standardabweichung

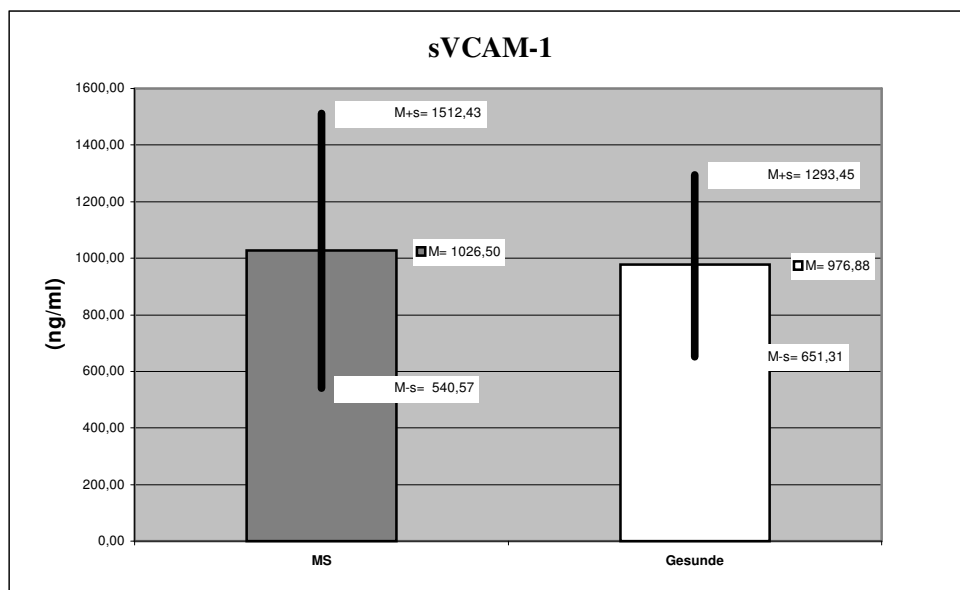


Diagramm 3.2: Unterschied in der Konzentration des sVCAM-1 bei gesunden (Gesunde) und den an Multiple Sklerose (MS) erkrankten Personen vor Therapie; M= Mittelwert, s= Standardabweichung

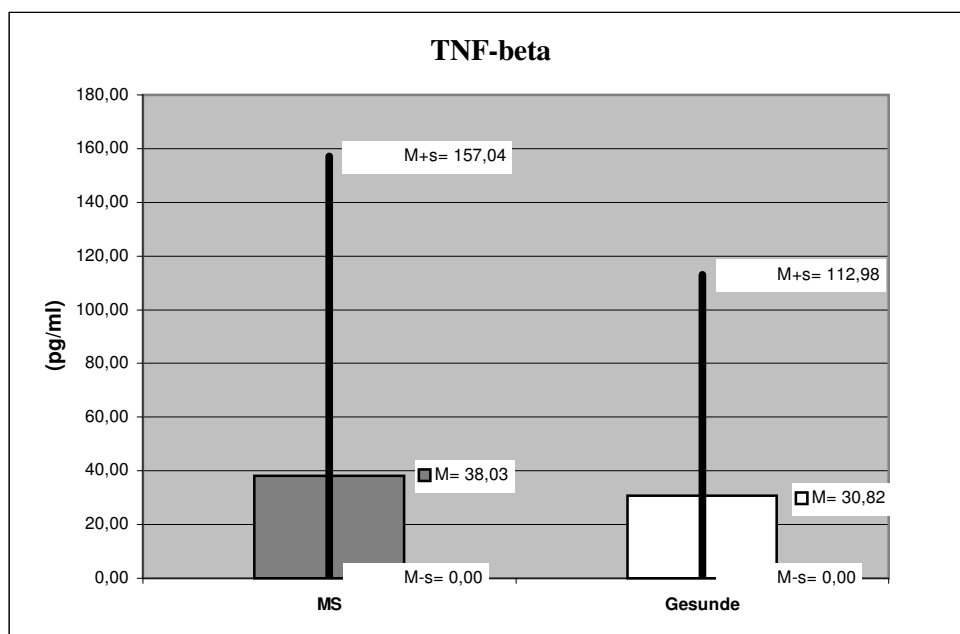


Diagramm 3.3: Unterschied in der Konzentration des TNF-beta bei gesunden (Gesunde) und den an Multiple Sklerose (MS) erkrankten Personen vor Therapie; M= Mittelwert, s= Standardabweichung

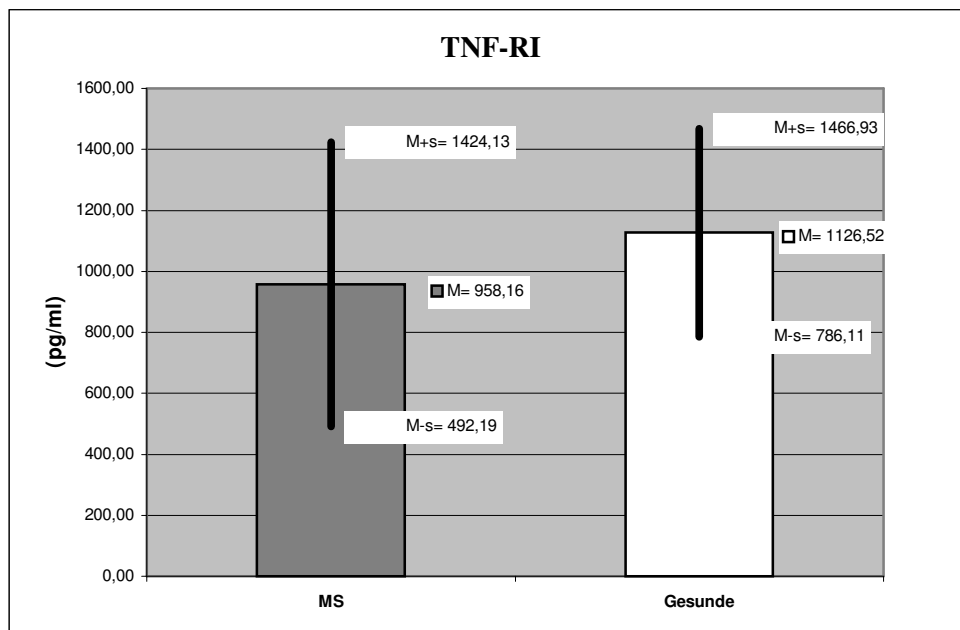


Diagramm 3.4: Unterschied in der Konzentration des TNF-RI bei gesunden (Gesunde) und den an Multiple Sklerose (MS) erkrankten Personen vor Therapie; M= Mittelwert, s= Standardabweichung

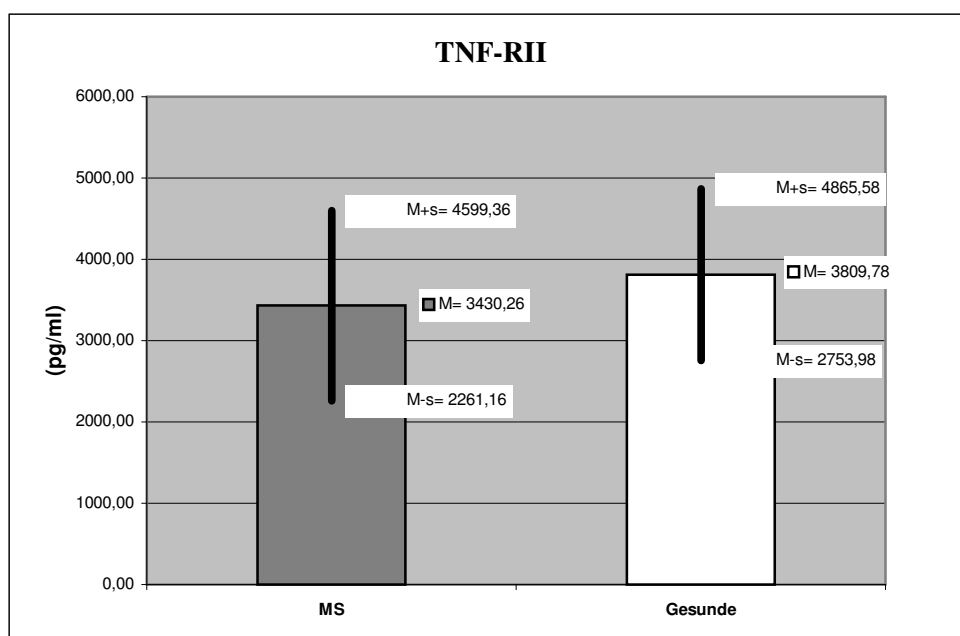


Diagramm 3.5: Unterschied in der Konzentration des TNF-RII bei gesunden (Gesunde) und den an Multiple Sklerose (MS) erkrankten Personen vor Therapie; M= Mittelwert, s= Standardabweichung

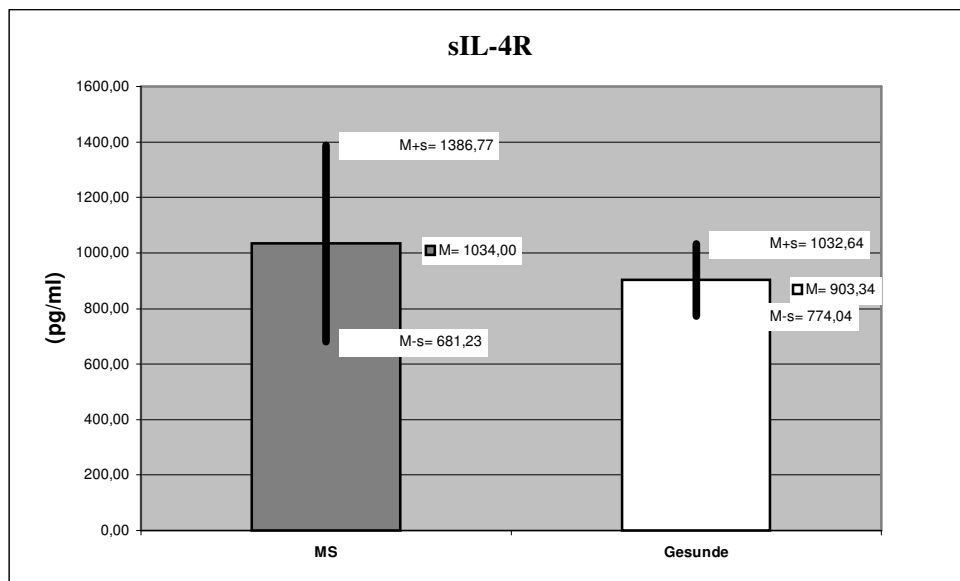


Diagramm 3.6: Unterschied in der Konzentration des sIL-4R bei gesunden (Gesunde) und den an Multiple Sklerose (MS) erkrankten Personen vor Therapie; M= Mittelwert, s= Standardabweichung

3.1.2 RRMS Patientengruppe versus SPMS Patientengruppe

Die SPMS-Patienten zeigten im Vergleich zu den RRMS-Patienten durchschnittlich ein wesentlich höheres Alter, ein höheres Alter bei der Erstdiagnose der Multiplen Sklerose, eine längere Dauer der Erkrankung, einen wesentlich höheren EDSS-Score, eine geringere Schubzahl, eine leicht erhöhte Schubdauer in den letzten zwei Jahren vor Therapiebeginn und in der länger als zwei Jahre zurückliegenden Vergangenheit eine höhere Schubzahl auf (s. Anhang Tabellen 3.3a und 3.3b).

Ein Vergleich der gemessenen Laborwerte zwischen den RRMS-Patienten und den SPMS-Patienten wies für keinen Parameter einen statistisch auffälligen Gruppenunterschied auf (s. Anhang Tabelle 3.4).

3.1.3 Die drei RRMS Gruppen (Untherapiert, Rebif, Betaferon)

Die untherapierte Gruppe stach hervor durch einen geringeren EDSS-Score an V0, eine geringere Anzahl der Schübe in den letzten 2 Jahren vor Studienbeginn sowie einer marginal geringeren Dauer der Erkrankung.

Die Rebif-Gruppe wies tendenziell eine höhere Schubdauer vor Therapiebeginn auf.

In den letzten zwei Jahren vor Therapiebeginn erhielten sieben Patienten aus der untherapierten Patientengruppe Kortison bei einem Schub, in den beiden Therapiegruppen keiner (s. Anhang Tabellen 3.5a und 3.5b).

Bei dem Vergleich der Zytokinkonzentrationen zu Beginn der Beobachtung beziehungsweise vor Behandlung an V0 zeigten sich für TNF-beta relativ hohe Werte in der untherapierten Gruppe und geringe Werte in der Betaferongruppe. Erhöhte sIL-4R Werte fanden sich vor Beginn der Behandlung in der Betaferongruppe und der Rebifgruppe (s. Anhang Tabelle 3.6).

Für die übrigen Parameter (sICAM-1, sVCAM-1, TNF-RI und TNF-RII) zeigten sich zu Beginn der Beobachtung/Behandlung (noch vor der ersten Medikamentengabe) keine statistisch auffälligen Unterschiede.

3.2 Spontaner Verlauf der RRMS

3.2.1 In Bezug auf den EDSS und auf die Schübe

Die untherapierten RRMS-Patienten zeigten weder zu Beginn der Beobachtung noch nach einem Jahr eine statistisch relevante Änderung des EDSS Scores. Es bestand ebenfalls kein Unterschied zwischen den über einen langen Zeitraum untherapierten Patienten („Completer“) und denen, die nach V4 auf ein rekombinantes Interferon wechselten („Wechsler“). Patienten, die die Studie während des einjährigen Beobachtungszeitraumes abbrachen, zeigten ebenfalls keine Auffälligkeit des EDSS Scores (s. Anhang Tabelle 3.7).

Eine angedeutete Zunahme der Schübe im spontanen Verlauf der MS war statistisch nicht signifikant.

3.2.2 In Bezug auf die Laborparameter

Für sICAM-1, sVCAM-1, TNF-beta und TNF-RI ergaben sich in der einjährigen Beobachtung der untherapierten RRMS Patienten statistisch keine relevanten Änderungen. TNF-RII und sIL-4R zeigten aber eine statistisch signifikante Abnahme der Konzentration über ein Jahr. Unterschiede zwischen Completers und Wechsler gab es für den TNF-RII, den sIL-4R, den sICAM-1 und den sVCAM-1 keine. Bei den RRMS Patienten, die das gesamte Jahr untherapiert blieben, zeigte sich eine leichte Konzentrationszunahme von TNF-beta im Serum. Patienten, die innerhalb des Jahres auf eine Therapie mit rIFN-beta wechselten „Wechsler“, zeigten eine leichte Konzentrationsabnahme von TNF-beta und die „Completer“ eine leichte

Konzentrationszunahme. Die TNF-RI Konzentration hatte eine abnehmende Tendenz bei den Completers und keine Konzentrationsänderung bei den Wechslern. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war aber lediglich nur für TNF-beta statistisch signifikant (s. Anhang Tabellen 3.8- 3.13).

3.3 Verlauf der RRMS unter Interferontherapie

Im Beobachtungszeitraum vor und nach einjähriger Therapie/Beobachtung der RRMS Patienten in den drei Gruppen (Untherapierte, Rebif und Betaferon) zeigten sich folgende Veränderungen:

3.3.1 In Bezug auf den EDSS und die Schübe

In der untherapierten Gruppe zeigt sich durchschnittlich keine Veränderung des EDSS Scores über die einjährige Beobachtung (global $p=0,0953$). Beide Therapiegruppen, stärker noch Rebif, zeigten zunächst schlechtere EDSS-Scores als Ausgangswerte. Hiervon ausgehend kam es unter Rebif zu einer Verschlechterung des EDSS ($p=0,0981$) und unter Betaferon zu einer leichten Besserung des EDSS ($p=0,3460$). Statistisch auffällig oder signifikant war hierbei der Paarvergleich Untherapierte vs. Rebifgruppe ($p=0,0981$) und Rebifgruppe vs. Betaferongruppe ($p=0,0505$) (s. Anhang Tabelle 3.14).

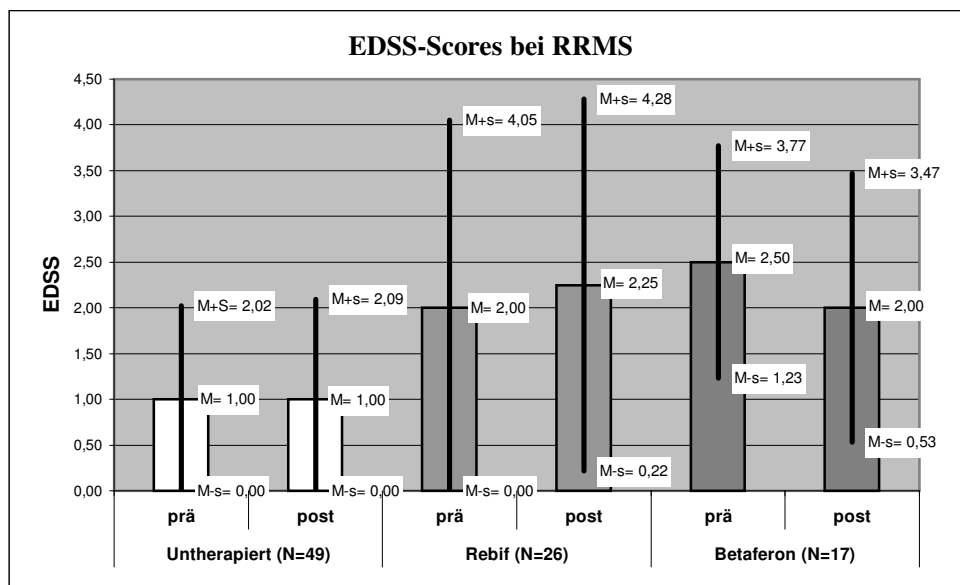


Diagramm 3.7: EDSS-Wert vor und nach Therapie mit verschiedenen Interferonen und ohne Therapie über einen Zeitraum von einem Jahr; M= Mittelwert, s= Standardabweichung, prä= vor Therapie-/Beobachtungsbeginn, post= nach Therapie-/Beobachtungsbeginn, N= Anzahl der Patienten deren Proben untersucht wurden

Betrachtet man die Inzidenz der Schübe, die individuelle Anzahl der Schübe und den Zeitpunkt des ersten Schubes, konnte man in den drei Gruppen Untherapiert, Rebif und Betaferon keine statistisch signifikanten Unterschiede ermitteln.

3.3.2 In Bezug auf die Laborparameter

Parameter	KW-Test	U versus R *	U versus B *	R versus B *
sICAM-1	p=0,4468	p=0,2235	p=0,4970	p=0,7467
sVCAM-1	p=0,0361	p=0,0357	p=0,0401	p=0,9703
TNF-beta	p=0,7736	p=0,4642	p=0,7682	p=0,9081
TNR-RI	p=0,9024	p=0,6304	p=0,9940	p=0,8522
TNF-RII	p=0,0041	p=0,0054	p=0,0114	p=0,7374
sIL-4R	p=0,0910	p=0,2368	p=0,1638	p=0,0345

Tabelle 3.15: Vergleich der Immunparameter unter einjähriger Interferontherapie in den drei Gruppen (U= untherapierte Gruppe, R= Rebifgruppe, B= Betaferongruppe, KW= Kruskal-Wallis, * = U-Test, p= p-Wert [p<0,15 werden als statistisch auffällig diskutiert])

Für sICAM-1, TNF-beta und TNF-RI gab es keine statistisch relevanten Konzentrationsänderungen über den einjährigen Verlauf der untherapierten RRMS Patienten. Auch der Vergleich der untherapierten Gruppe mit der Rebif- oder Betaferongruppe sowie der direkte Vergleich der Therapiegruppen untereinander zeigte diesbezüglich keine relevanten Konzentrationsänderungen.

sVCAM-1 (p=0,0361) zeigte für die untherapierte Gruppe eine leichte Zunahme der Konzentration, die im Median deutlicher unter Rebif und Betaferon zu verzeichnen war. Der direkte Vergleich der untherapierten Gruppe mit den jeweiligen Therapiegruppen zeigte eine deutlich statistisch signifikante Konzentrationszunahme für Rebif und Betaferon. Einen wesentlichen Unterschied in den Konzentrationsänderungen zwischen Rebif und Betaferon gab es nicht.

TNF-RII (p=0,0041) zeigt in der untherapierten Gruppe eine deutliche Abnahme der Konzentration. In beiden Therapiegruppen nahm die TNF-RII Konzentration der RRMS Patienten unter der einjährigen Therapie statistisch signifikant zu. Aber auch hier zeigte ein direkter Vergleich der Rebif- mit der Betaferongruppe keinen statistisch signifikanten Unterschied.

sIL-4R (p=0,0910) zeigte kaum Konzentrationsveränderungen unter Rebif, eine leichte Konzentrationsabnahme in der untherapierten Gruppe und eine deutliche Abnahme unter der

Betaferontherapie. Statistisch signifikant ist lediglich die Konzentrationsabnahme unter Betaferon (s. Tabellen 3.16- 3.21 und die im Folgenden dargestellten Diagramme).

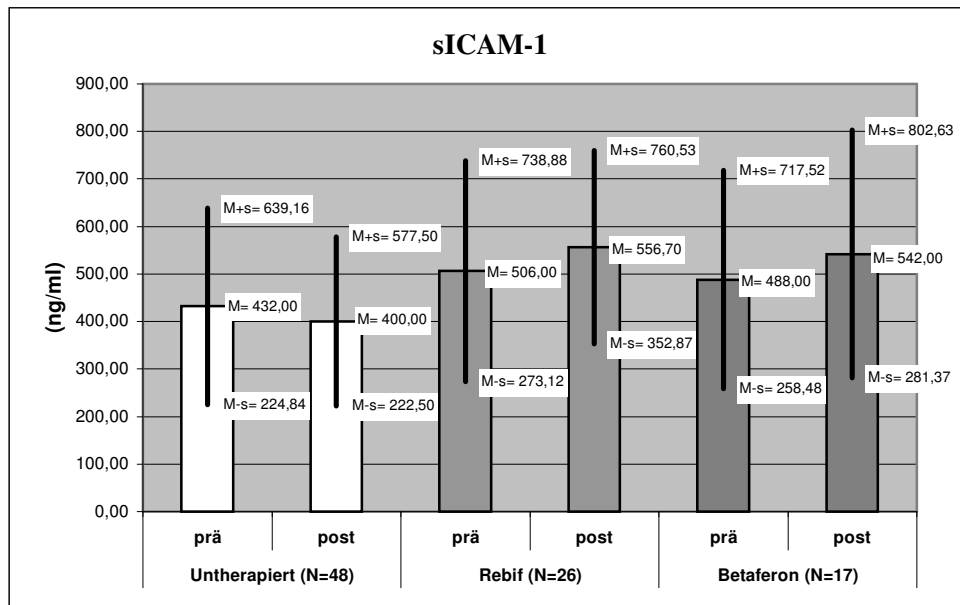


Diagramm 3.8: sICAM-1 Konzentration vor und nach Therapie mit verschiedenen Interferonen und ohne Therapie über einen Zeitraum von einem Jahr; M= Mittelwert, s= Standardabweichung, prä= vor Therapie-/Beobachtungsbeginn, post= nach Therapie-/Beobachtungsbeginn, N= Anzahl der Patienten, deren Proben untersucht wurden

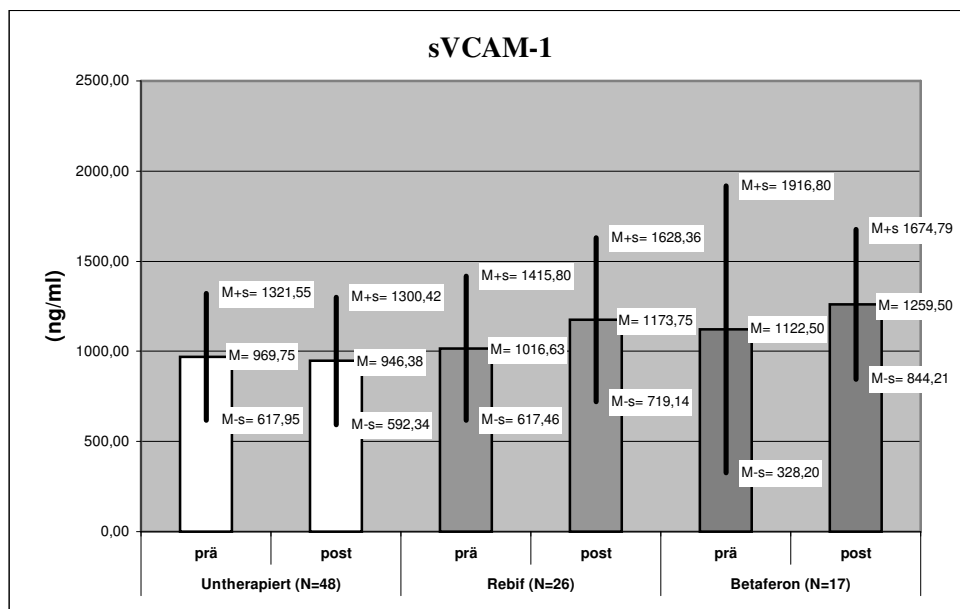


Diagramm 3.9: sVCAM-1 Konzentration vor und nach Therapie mit verschiedenen Interferonen und ohne Therapie über einen Zeitraum von einem Jahr; M= Mittelwert, s= Standardabweichung, prä= vor Therapie-/Beobachtungsbeginn, post= nach Therapie-/Beobachtungsbeginn, N= Anzahl der Patienten, deren Proben untersucht wurden

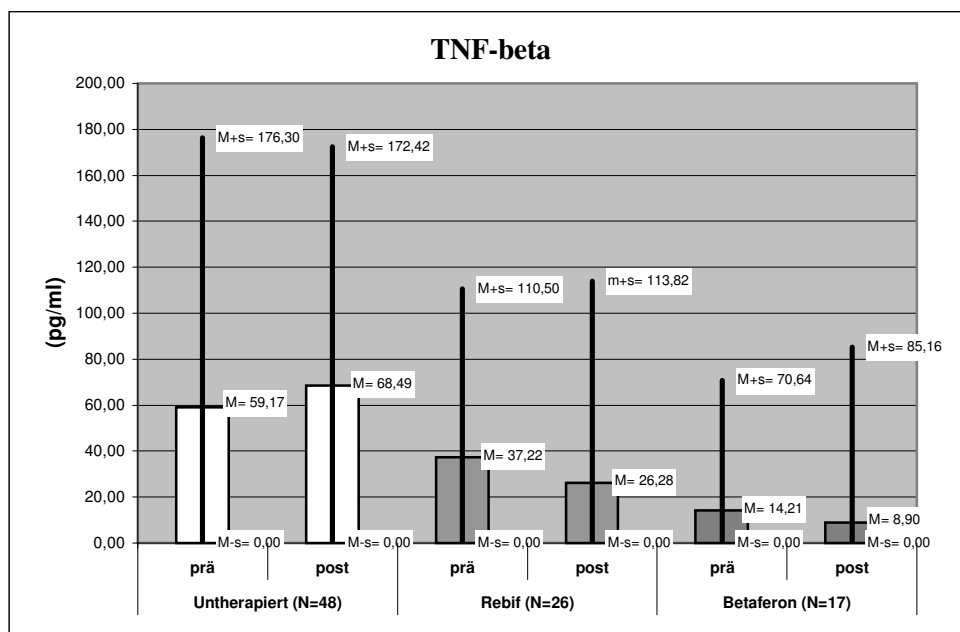


Diagramm 3.10: TNF-beta Konzentration vor und nach Therapie mit verschiedenen Interferonen und ohne Therapie über einen Zeitraum von einem Jahr; M= Mittelwert, s= Standardabweichung, prä= vor Therapie-/Beobachtungsbeginn, post= nach Therapie-/Beobachtungsbeginn, N= Anzahl der Patienten, deren Proben untersucht wurden

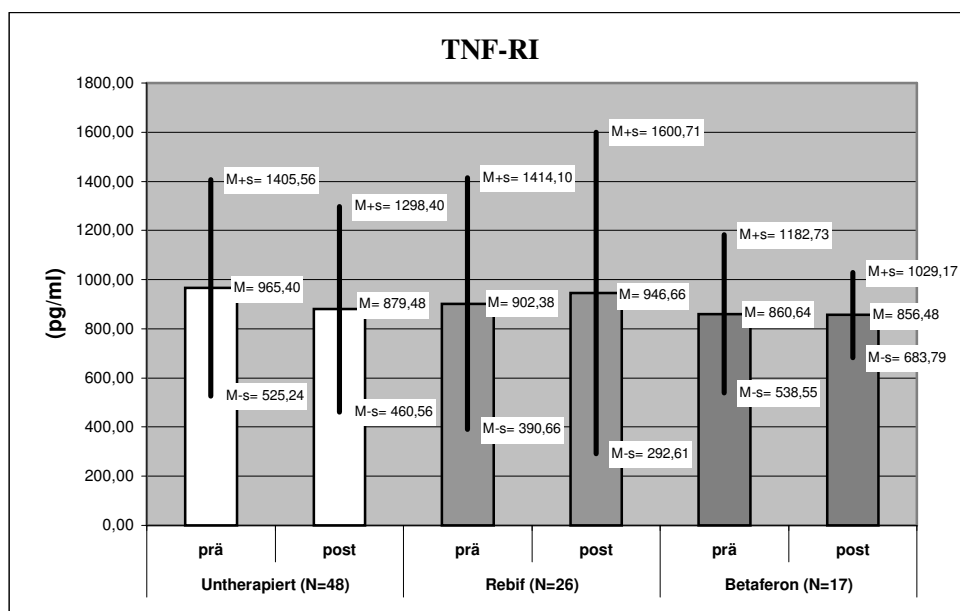


Diagramm 3.11: TNF-RI Konzentration vor und nach Therapie mit verschiedenen Interferonen und ohne Therapie über einen Zeitraum von einem Jahr; M= Mittelwert, s= Standardabweichung, prä= vor Therapie-/Beobachtungsbeginn, post= nach Therapie-/Beobachtungsbeginn, N= Anzahl der Patienten, deren Proben untersucht wurden

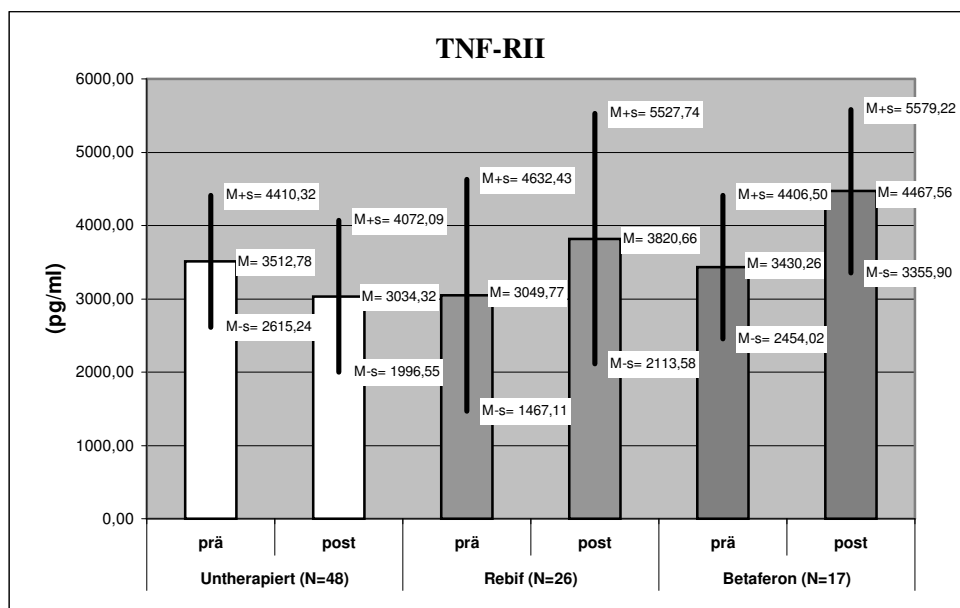


Diagramm 3.12: TNF-RII Konzentration vor und nach Therapie mit verschiedenen Interferonen und ohne Therapie über einen Zeitraum von einem Jahr; M= Mittelwert, s= Standardabweichung, prä= vor Therapie-/Beobachtungsbeginn, post= nach Therapie-/Beobachtungsbeginn, N= Anzahl der Patienten, deren Proben untersucht wurden

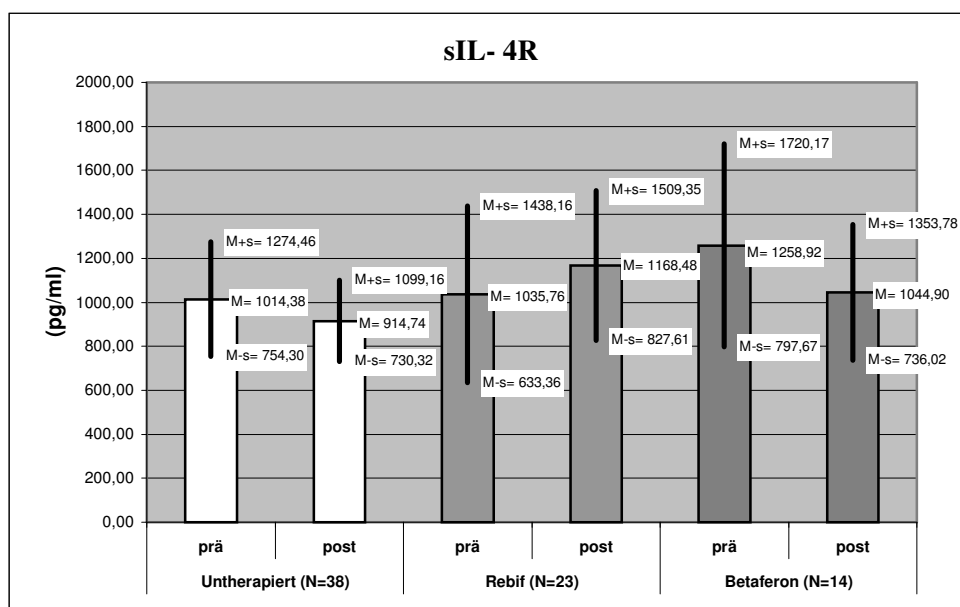


Diagramm 3.13: sIL-4R Konzentration vor und nach Therapie mit verschiedenen Interferonen und ohne Therapie über einen Zeitraum von einem Jahr; M= Mittelwert, s= Standardabweichung, prä= vor Therapie-/Beobachtungsbeginn, post= nach Therapie-/Beobachtungsbeginn, N= Anzahl der Patienten, deren Proben untersucht wurden

3.4 Vergleich der RRMS- mit den SPMS- Patienten unter Betaferon über ein Jahr

Bezüglich des EDSS-Scores gab es keinen Unterschied zwischen den RRMS- und den SPMS-Patienten zu Beginn der Betaferontherapie und nach einem Jahr, obwohl das Niveau der EDSS-Scores bei den SPMS Patienten wesentlich höher lag (s. Anhang Tabelle 3.22).

Auch die Differenzen der Konzentrationen von sICAM-1, sVCAM-1, TNF-beta, TNF-RI, TNF-RII und sIL-4R zu Beginn der Therapie und nach einem Jahr ergaben für beide Patientengruppen keine statistisch auffälligen Unterschiede (s. Anhang Tabellen 3.23 und 3.24).

3.5 Verlauf der RRMS unter Betaferonbehandlung über zwei Jahre

3.5.1 In Bezug auf den EDSS

Eine Änderung der EDSS-Scores über den zweijährigen Therapieverlauf war nicht nachzuweisen. Der EDSS-Status war im gesamten Verlauf weitestgehend stabil (s. Anhang Tabelle 3.25).

Parameter	V4 versus V0	Vpost versus V4	Vpost versus V0
EDSS	p=0,9375	p=0,9063	p=0,9141

Tabelle 3.26: EDSS unter zweijähriger Betaferontherapie der RRMS- Patienten
(V0 = vor/ am Tag der Therapie, V4= nach einjähriger Therapie,
Vpost = nach zweijähriger Therapie, p = p-Wert [Wilcoxon-Test])

3.5.2 In Bezug auf die Laborparameter

Betrachtet man die Zytokinkonzentrationen im Blut unter der zweijährigen Betaferonbehandlung, ergaben sich folgende Veränderungen: sICAM-1 und TNF-beta zeigten bei den RRMS Patienten unter Betaferon eine leichte Konzentrationszunahme im ersten und im zweiten Jahr der Behandlung, woraus sich eine statistisch signifikante Konzentrationszunahme beider Parameter im gesamten Verlauf ergab.

sVCAM-1 zeigte im ersten Jahr eine leichte Zunahme seiner Konzentration und im zweiten Jahr keine wesentliche Änderung mehr, so daß der Verlauf, über zwei Jahre beurteilt, keine statistisch relevante Änderung darstellte.

Die TNF-RII Konzentration nahm im ersten Therapiejahr stark und im zweiten Jahr noch leicht zu, so daß über den gesamten Zeitraum gesehen eine statistisch auffällige Zunahme der TNF-RII Konzentration zu erkennen war.

sIL-4R zeigte eine signifikante Abnahme seiner Konzentration im ersten sowie im zweiten Behandlungsjahr mit Betaferon mit daraus folglich ebenfalls signifikanter Abnahme seiner Konzentration über den gesamten Zweijahreszeitraum.

TNF-RI zeigte weder im ersten noch im zweiten Jahr unter Betaferon eine signifikante Konzentrationsänderung. (s. Anhang Tabelle 3.27)

Parameter	V4 versus V0	Vpost versus V4	Vpost versus V0
sICAM-1	p=0,7489	p=0,1876	p=0,0341
sVCAM-1	p=0,0554	p=0,6788	p=0,4543
TNF-beta	p=0,6875	p=0,3594	p=0,1289
TNF-RI	p=0,4887	p=0,5614	p=0,9341
TNF-RII	p=0,0215	p=0,2293	p=0,1354
sIL-4R	p=0,0093	p=0,0195	p=0,0010

Tabelle 3.28: Immunparameter unter zweijähriger Betaferontherapie der RRMS Patienten
(V0 = vor/ am Tag der Therapie, V4= nach einjähriger Therapie,
Vpost = nach zweijähriger Therapie, p = p-Wert [Wilcoxon-Test])

3.6 Schübe während des einjährigen Krankheitsverlaufes, Responder/ Nonresponder

Um statistisch den Einfluß der Therapie auf die Schubfrequenz klar darlegen zu können, wurden sog. „Responderraten“ definiert. Responder waren diejenigen Patienten, bei denen die Interferontherapie einen günstigen Effekt auf ihre Schubfrequenz und Schubdauer hatte. Die Nonresponder zeigten diesbezüglich keinen positiven Effekt.

Es wurde für die Schubfrequenz zunächst ein Referenzwert aus der Anzahl der Schübe in den letzten 2 Jahren vor Therapiebeginn mal der Dauer der Behandlung (in Tagen), geteilt durch 730 Tage, errechnet. Danach wurde für jeden RRMS Patienten die Anzahl der Schübe im einjährigen Beobachtungszeitraum mit dem Referenzwert verglichen.

Der Referenzwert für die Responderraten der Schubdauer wurde entsprechend dem Referenzwert der Schubfrequenz berechnet und mit der Schubdauer der einjährigen Behandlung verglichen. Eine Person galt dann als Responder bzgl. der Schubdauer, wenn die Schübe im Behandlungszeitraum mal der Länge der Schübe kleiner sind als der Referenzwert mal der Länge der damals anamnestisch erhobenen Schübe. Somit galt jemand als Nonresponder bezüglich der Schubdauer, wenn die Schübe im Beobachtungszeitraum mal der Länge der Schübe im

Beobachtungszeitraum größer oder gleich dem Referenzwert, multipliziert mit der Länge der Schübe zwei Jahre vor Beobachtungszeitraum, waren.

3.6.1 Schübe der drei RRMS Patientengruppen (Untherapierte, Rebif, Betaferon)

Bezüglich der Responderraten der Schubfrequenz ergaben sich folgende Ergebnisse:
($p=0,0280$)

Untherapierte Gruppe:	24/49 = 49,0% Responder
Rebifgruppe:	21/27 = 77,8% Responder
Betaferongruppe:	13/18 = 72,2% Responder

Bezüglich der Responderraten der Schubdauer ergaben sich folgende Ergebnisse:
($p=0,0745$)

Untherapierte Gruppe:	25/49 = 51,0% Responder
Rebifgruppe:	19/27 = 70,4% Responder
Betaferongruppe:	14/18 = 77,8% Responder

Ohne eine Bildung der Responderraten und unter lediglicher Berücksichtigung des einjährigen Therapie/ Beobachtungszeitraumes konnten bezüglich der Inzidenz der Schübe, der individuellen Anzahl der Schübe, des Zeitpunktes des ersten Schubes, der Inzidenz der Kortisontherapien beim Schub und der individuellen Anzahl der Schübe mit Kortisontherapie zwischen den drei Gruppen keine statistisch signifikanten Unterschiede ermittelt werden (s. Anhang Tabelle 3.29).

3.6.2 Schübe der RRMS Patienten und SPMS Patienten im ersten Jahr unter Betaferon

Die erwartete höhere Schubfrequenz bei den RRMS gegenüber den SPMS Patienten konnte über dem einjährigen Beobachtungszeitraum statistisch belegt werden (s. Anhang Tabelle 3.30).

Bezüglich der Schubfrequenz ergaben sich bei den mit Betaferon behandelten Patienten folgende Responderraten:

($p=0,5453$)

RRMS:	13/18 = 72,2% Responder
SPMS:	10/16 = 62,5% Responder

Bezüglich der Schubdauer ergaben sich folgende Responderraten:
($p=0,3291$)

RRMS:	14/18 = 77,8% Responder
SPMS:	10/16 = 62,5% Responder

3.6.3 Schübe der RRMS Patienten unter zweijähriger Betaferontherapie

Es wurden 16 mit Betaferon therapierte RRMS Patienten über einen Zeitraum von zwei Jahren beobachtet. Es konnte in dieser Gruppe eine deutliche Reduktion der Schübe im zweiten Jahr der Behandlung beobachtet werden (s. Anhang Tabelle 3.31).

3.7 Einfluß der Schübe auf die Änderung des EDSS und der Laborparameter

Es folgt eine kovarianzanalytische Auswertung des EDSS-Scores und der Laborwerte unter Berücksichtigung der Gruppierung „Untherapiert“, „Rebif“, „Betaferon“, des Auftretens von Schüben, der resultierenden Wechselwirkung sowie den Vorbefunden als Kovariate.

3.7.1 Änderung des EDSS unter Berücksichtigung der Schübe im ersten Jahr

Es bestanden keine auffälligen Schubeffekte auf den EDSS-Score.

Parameter	Vorbefund	Gruppe	Schub	Wechselwirkung
EDSS	p=0,0570	p=0,1964	p=0,3588	p=0,4734

Tabelle 3.32: Kovarianzanalyse der Prüfparameter unter Berücksichtigung von Schüben bei den RRMS-Patienten: EDSS

3.7.2 Änderung der Laborwerte unter Berücksichtigung der Schübe im ersten Jahr der Behandlung

Signifikante Auffälligkeiten bezüglich der Schübe in den jeweiligen Gruppen konnten nur für sICAM-1 und sVCAM-1 ermittelt werden.

Parameter	Vorbefund	Gruppe	Schub	Wechselwirkung
sICAM-1	p<0,0001	p=0,0029	p=0,0038	p=0,0235
sVCAM-1	p<0,0001	p=0,0011	p=0,0001	p=0,0067
TNF-beta	p=0,0044	p=0,3738	p=0,0526	p=0,0767
TNF-RI	p=0,0644	p=0,8499	p=0,9311	p=0,7267
TNF-RII	p=0,0134	p=0,0125	p=0,5063	p=0,6401
sIL-4R	p<0,0001	p=0,0022	p=0,3703	p=0,9676

Tabelle 3.33: Kovarianzanalyse der Prüfparameter unter Berücksichtigung von Schüben bei RRMS-Patienten: Laborwerte

Nach Adjustierung auf einen gemeinsamen Ausgangswert hatte eine starke Zunahme von sICAM-1 nur unter Rebif (N=10) und unter Betaferon (N=4) eine Reduktion der Schübe zur Folge.

sICAM-1: (adjustierte Mittelwerte + Standardabweichung)

Untherapiert / kein Schub	:	-42,82 + 38,93 ng/ml
Untherapiert / Schub	:	-28,87 + 33,59 ng/ml
Rebif / kein Schub	:	123,95 + 55,22 ng/ml
Rebif / Schub	:	-2,36 + 43,45 ng/ml
Betaferon / kein Schub	:	286,71 + 86,91 ng/ml
Betaferon / Schub	:	5,26 + 48,51 ng/ml

Signifikante Zunahmen von sVCAM-1 wurden bei Patienten unter Rebif (N=10) und vor allem Betaferon (N=4) ohne Schub gesehen.

sVCAM-1: (adjustierte Mittelwerte + Standardabweichung)

Untherapiert / kein Schub	:	5,07 + 72,19 ng/ml
Untherapiert / Schub	:	-31,95 + 63,35 ng/ml
Rebif / kein Schub	:	367,86 + 104,37 ng/ml
Rebif / Schub	:	134,04 + 82,25 ng/ml
Betaferon / kein Schub	:	657,80 + 164,51 ng/ml
Betaferon / Schub	:	-63,13 + 91,81 ng/ml

Für TNF-RII und sIL-4R bestanden Gruppeneffekte ohne Bezug zum Auftreten von Schüben. Für TNF-beta wurden, basierend auf einer Zunahme des TNF-beta bei Patienten unter Betaferon ohne Schub, grenzwertige Effekte des Schubfaktors ermittelt.

3.8 Nebenwirkungen

3.8.1 Bei einjähriger Behandlung mit Betaferon

Nebenwirkungen waren im Verlauf des ersten Jahres unter Interferontherapie bei Rebif an 23 von 27 Patienten (=85,2%) und bei Betaferon an 32 von 35 Patienten (=91,4%) aufgetreten. An Nebenwirkungen wurden grippale Symptome, lokale Hautreaktionen, Alopezie, Depression,

Gangverschlechterung, Gelenkschmerzen, Leberenzymerrhöhung, Leukopenie, Müdigkeit, Schlafstörung und Spastik registriert.

Individuell wurden für Rebif ein bis zwei Symptome und für Betaferon bis zu vier Symptome (U-Test: $p = 0,0132$. „Keine“ Nebenwirkungen fließen mit „0“ in den U -Test ein.) genannt.

3.8.2 Bei zweijähriger Behandlung mit Betaferon

Von den gleichen Symptomarten ausgehend wie bei der einjährigen Beobachtung konnte nachgewiesen werden, daß bei der zweijährigen Behandlung mit Betaferon die Symptome weniger wurden. Im ersten Jahr waren es noch 14 von 16 Patienten (=87,8%) und im zweiten Jahr nur noch 11 von 16 Patienten(=68,8%), die über Nebenwirkungen klagten.

(U-Test: $p = 0,0132$. „Keine“ Nebenwirkungen gingen mit „0“ in den U -Test ein.)

3.9 Korrelation der Laborparameter

Zum Zweck einer besseren Orientierung wurden die Korrelationen der einzelnen Parameter auf der Basis aller Erhebungen mittels dem Spearman`s Korrelationskoeffizienten „ r_s “ bestimmt.

Mittelgradige Korrelationen lagen bei ca. 0,3 und hohe Korrelationen bei ca. 0,5 und höher.

Schwache Korrelationen, die aber schon statistisch relevant waren, lagen bei ca. 0,1.

3.9.1 Korrelation der Laborparameter untereinander

Parameter	Parameter	N	r_s	p-Wert
sICAM-1	sVCAM-1	476	0,340	$p < 0,0001$
	TNF-beta	475	0,018	$p = 0,6961$
	TNF-RI	476	0,094	$p = 0,0396$
	TNF-RII	476	0,139	$p = 0,0024$
	sIL-4R	399	0,062	$p = 0,2151$
sVCAM-1	TNF-beta	475	-0,050	$p = 0,2761$
	TNF-RI	476	0,374	$p < 0,0001$
	TNF-RII	476	0,462	$p < 0,0001$
	sIL-4R	399	0,053	$p = 0,2864$
TNF-beta	TNF-RI	475	0,128	$p = 0,0052$
	TNF-RII	475	-0,015	$p = 0,7426$
	sIL-4R	399	-0,148	$p = 0,0031$
TNF-RI	TNF-RII	476	0,717	$p < 0,0001$
	sIL-4R	399	0,104	$p = 0,0387$
TNF-RII	sIL-4R	399	0,186	$p = 0,0002$

Tabelle 3.34: Korrelation der Laborparameter bei den MS Patienten untereinander
(N = Anzahl der gemessenen Patienten proben,
 r_s = Spearman`s Korrelationskoeffizient)

Eine hohe Korrelation bestand somit zwischen TNF-RI und TNF-RII, mittelgradige Korrelationen für sICAM-1 mit sVCAM-1, für sVCAM-1 mit TNF-RI und TNF-RII und eine schwache, aber statistisch noch relevante Korrelation für sICAM-1 mit TNF-RII, sIL-4R mit TNF-RI und II sowie eine schwach negative Korrelation von TNF-beta mit sIL-4R.

3.9.2 Korrelation der Laborparameter mit dem EDSS-Score der RRMS und der SPMS Patientengruppe

Parameter	Parameter	N	rs	p-Wert
sICAM-1	EDSS	386	0,085	p=0,0956
sVCAM-1	EDSS	386	0,210	p<0,0001
TNF-beta	EDSS	385	-0,056	p=0,2706
TNF-I	EDSS	386	0,304	p<0,0001
TNF-RII	EDSS	386	0,313	p<0,0001
sIL-4	EDSS	314	0,120	p=0,0333

Tabelle 3.35: Korrelation der Laborwerte mit dem EDSS der RRMS Patienten
(N = Anzahl der gemessenen Patienten proben,
 r_s = Spearman's Korrelationskoeffizient)

Hiermit bestand bei den RRMS Patienten eine positive Korrelation zwischen dem EDSS und sVCAM-1, TNF-RI und TNF-RII sowie eine schwache positive Korrelation mit sIL-4R.

Parameter	Parameter	N	rs	p-Wert
sICAM-1	EDSS	72	-0,024	p=0,8384
sVCAM-1	EDSS	72	0,118	p=0,3239
TNF-beta	EDSS	72	0,329	p=0,0048
TNF-RI	EDSS	72	0,117	p=0,3286
TNF-RII	EDSS	72	0,002	p=0,9888
sIL-4R	EDSS	72	-0,113	p=0,3437

Tabelle 3.36: Korrelation der Laborwerte mit dem EDSS der SPMS Patienten
(N = Anzahl der gemessenen Patienten proben,
 r_s = Spearman's Korrelationskoeffizient)

Bei Patienten mit SPMS trat lediglich eine positive Korrelation zwischen dem EDSS und TNF-beta in Erscheinung.

3.10 Logistische Regression bezüglich der Schübe, der Inzidenzen grippaler Symptome und der Responderraten.

Zur Beurteilung der logistischen Regression bezüglich der Schübe konnten 90 MS-Patienten untersucht werden, bezüglich der Inzidenzen grippaler Symptome 53 MS Patienten und bezüglich der Responderraten 88 MS Patienten. Die logistische Regression wurde in allen drei Fällen auf die immunologischen Parameter, dem Geschlecht, dem Alter bei Erstdiagnose, der MS Verlaufsform, der Anzahl der Schübe in den letzten zwei Jahren, dem EDSS an V0 und dem zu Grunde liegenden Interferontyp bezogen. Die Grenzen zur Zuordnung eines Parameters als 0 oder 1 sind aus den jeweiligen Tabellen zu entnehmen (s. Anhang Tabelle 3.37).

Bezüglich der Schübe zeigte sich, daß das Risiko für das Auftreten von Schüben für Konzentrationen des sIL-4R ≥ 1000 pg/ml an V0 (V0 entspricht dem Zeitpunkt vor Therapiebeginn) signifikant erhöht war ($p=0,0044$; odds ratio 4,577). Weiterhin ergab sich, daß das Risiko für das Auftreten von Schüben für SPMS herabgesetzt war ($p=0,1361$; odds ratio 0,289). Das Risiko für das Auftreten von Schüben war in der „Altersklasse > 30 Jahre“ signifikant erhöht ($p=0,0235$; odds ratio 3,664).

Eine erhöhte Inzidenz für das Auftreten von grippalen Symptomen zeigte in keiner der drei Gruppen eine statistisch signifikante Aussage. Lediglich ergab sich für sICAM-1, TNF-beta und für TNF-RII eine auffällige odds ratio. Es ließ sich herausstellen, daß das Risiko für die Inzidenz grippaler Symptome dann erhöht zu sein schien, wenn sICAM-1 ≤ 500 ng/ml, oder TNF-beta ≥ 40 pg/ml, oder sTNF-RII ≤ 3500 pg/ml betrug.

Bezüglich der Responderraten ergaben sich dann wieder statistisch signifikante Aussagen. Gegenüber einer INF-beta Therapie ließ sich bei Patienten, die älter als 30 Jahre alt waren, eine signifikant reduzierte Responderrate herausfinden ($p=0,0011$; odds ratio 0,120). Weiterhin ließen sich signifikant reduzierte Responderraten für sIL-4R ≥ 1000 pg/ml an V0 ($p=0,0231$; odds ratio 0,265) und für sVCAM-1 ≥ 1000 ng/ml an V0 ($p=0,0895$; odds ratio 0,33) herausstellen.

Eine Behandlung mit rINF-beta erhöhte demnach die Responderwahrscheinlichkeit mit einer odds ratio von 2,569 ($p=0,1864$).

4 Diskussion

4.1 Bewertung der Methodik

4.1.1 Aufbau der Studie

Diese Arbeit basiert auf einer offenen prospektiven, nicht randomisierten Längsschnittstudie, die nicht Plazebo kontrolliert und nicht verblindet ist.

Es wurden vier Patientengruppen SPMS-Betaferon, RRMS-untherapiert, RRMS-Rebif und RRMS-Betaferon gebildet, von denen die letztgenannte über zwei Jahre und die anderen über ein Jahr beobachtet wurden. Weiterhin wurden einmalig gleich sechs Immunparameter an 20 nicht an Multiple Sklerose erkrankten Personen, die bezüglich des Geschlechtes und des Alters gegenüber den MS-Patienten nicht wesentlich differierten, bestimmt. Lediglich der Altersmedian in diesem Gesundenkollektiv war leicht niedriger, da bei ihnen die Altersgruppe ≤ 30 Jahren stärker frequentiert war. Somit ist ein Vergleich des Gesundenkollektives mit den MS Patienten durchaus zulässig. Der Unterschied in den gemessenen Immunparametern zeigte die sinnvolle Auswahl dieser und bestätigte die Hypothese, daß es sich bei der Multiplen Sklerose um ein ursächlich verändertes Immunsystem handelt.

Trotz Abbrüchen einiger Patienten, deren Anzahl in dieser Studie nicht sehr hoch war, blieben die Patientenkollektive hinreichend groß, um statistisch signifikante Aussagen zu treffen. Für die Untersuchung sICAM-1, sVCAM-1, TNF-RI, TNF-RII und TNF-beta konnten 48 untherapierte RRMS Patienten, 16 mit Betaferon therapierte SPMS Patienten, 26 mit Rebif und 17 mit Betaferon therapierte RRMS Patienten ausgewertet werden. Für den Parameter sIL-4R waren es 38 Untherapierte, 16 SPMS Patienten unter Betaferon, 23 RRMS Patienten unter Rebif und 14 RRMS Patienten unter Betaferon, die ausgewertet werden konnten.

Dieses ist die erste Studie, in der gleich 6 Immunparameter aus einer Patientenprobe nach Alliquotierung dieser bestimmt wurden. Weiterhin wurde erstmalig der sIL-4R mitbestimmt. Die Immunparameterkonstellation der SPMS Patienten unter Betaferon wurde zuvor ebenfalls noch nicht so ausführlich gemessen.

Patienten, die nach oder während der einjährigen Beobachtungszeit in eine Therapie wechselten, (sog „Wechsler“) wurden in der Therapiegruppe weiter beobachtet. Sie stellten damit eine zusätzliche Patienteneinheit dar, bei der es von Interesse war, ob es einen Zusammenhang zwischen den sich verändernden Zytokinparametern und dem Wunsch, auf eine Therapie umzusteigen, gab. Die andere Gruppe, die weiterhin keine Therapie wünschte, stellte die Gruppe der „Completer“ dar. Bedingt durch die Progression der Erkrankung und dem damit aus

ärztlicher Sicht verbundenen notwendigen Einsatz einer Therapie wurden Patienten, die sehr früh in eine Therapie wechselten, lediglich in der Therapiegruppe weiter beobachtet.

Das Studiendesign wurde aus ethischen Gründen „offen“ gewählt, das heißt, daß jeder Patient zu jeder Zeit wählen konnte, ob er eine Therapie wünschte oder nicht. Weiterhin stand dem Patienten frei, welches Interferon-beta Präparat er anwenden mochte oder ob er eine ganz andere immunmodulatorische Therapie wählen mochte. Somit konnte die in den großen Studien angewandte Randomisierung nicht gewährleistet werden, denn lediglich diese kann in eine Studie völlige Strukturgleichheit bringen. Hätte man in dieser Studie randomisiert, müsste man jedem Patienten per Zufall entweder eine Therapie mit Betaferon oder Rebif zukommen lassen oder gar nicht therapieren. Da aber die Interferonpräparate in mehreren großen Studien einen nachweislichen Erfolg auf die Reduktion der Schübe und die Verlangsamung der Krankheitsprogression gezeigt haben, wäre es unzulässig, diesen Patienten per Zufall eine wirksame Therapie vorzuenthalten.

Um den Patienten beratend zur Seite zu stehen, orientierten wir uns an den Empfehlungen der MSTKG, die einen Therapiebeginn mit Interferon-beta bei aktivem Krankheitsverlauf mit mindestens zwei funktionell relevanten Schüben in den letzten beiden Jahren oder das Auftreten eines schweren Schubes mit schlechter Remissionstendenz empfehlen. Um dennoch eine Interpretation der in dieser Studie gewonnenen Ergebnisse zu ermöglichen, wurden die Strukturunterschiede der einzelnen Gruppen genau herausgearbeitet.

Bezüglich der Homogenität zwischen den Gruppen unterschieden sich die Gruppen lediglich durch ihre definitionsgemäß typischen Merkmale. Daher war bei annähernd gleichen Ausgangswerten der Laborparameter der Gruppen eine Vergleichbarkeit zulässig. Es war zu erwarten, daß die SPMS Patienten durchschnittlich im Vergleich zu den RRMS Patienten ein wesentlich höheres Alter, eine längere Dauer der Erkrankung, einen wesentlich höheren EDSS-Score und eine geringere Schubzahl in den letzten zwei Jahren sowie in der länger als zwei Jahre zurückliegenden Vergangenheit eine höhere Schubzahl aufwiesen. Denn wie der Literatur zu entnehmen ist, entwickeln ca. 50% der RRMS Patienten nach 10 Jahren einen sekundär chronischen Krankheitsverlauf. Alleine aus diesem Krankheitsverlauf ergibt sich, daß die Erkrankungsdauer der SPMS Patienten länger ist, die Patienten bei Studienbeginn älter sind und der EDSS auch im Laufe der längeren Erkrankung zunimmt. Die Definition der sekundär chronischen MS sagt durch ihren chronischen Verlauf schon aus, daß Schübe bei diesem Verlauf deutlich weniger auftreten. Auch eine leicht erhöhte Schubdauer in den letzten 2 Jahren scheint charakteristisch für die SPMS zu sein. Ein höheres Alter bei Erstdiagnose läßt sich dadurch

erklären, daß die SPMS sich erst nach ein paar Jahren aus der RRMS entwickelt. Eine andere Erklärung wäre, daß die MS vor ein paar Jahren erst sehr spät erkannt wurde.

Der geringere EDSS-Score bei Beobachtungsbeginn sowie eine marginal geringere Dauer der Erkrankung und eine geringere Anzahl der Schübe in den letzten zwei Jahren bei den untherapierten Patienten, im Gegensatz zu den Patienten, die kurz darauf eine Therapie erhielten, definiert auch diese Gruppe charakteristisch. Denn erst bei größerem Leidensdruck, also bei höherer Schubfrequenz und höherem EDSS-Score, wünschen die Patienten eine Therapie. Weiterhin richteten wir uns hinsichtlich eines Therapiebeginns nach der MSTKG, deren Empfehlung zugleich die Einschußkriterien für diese Studie zum Beginn einer Therapie sind. Somit kann man sagen, daß in den Therapiegruppen „kränkere“ Patienten beobachtet wurden als in der untherapierten Gruppe.

Die Ursache der oben genannten Strukturunterschiede zwischen den Gruppen lassen sich auf Grund der aus ethischen Gesichtspunkten gewählten „offenen“ Studie erklären.

Es besteht aber ein Homogenitätsunterschied zwischen den mit Rebif behandelten Patienten gegenüber den mit Betaferon behandelten Patienten. Die Rebif Gruppe bot tendenziell eine höhere Schubdauer vor Therapiebeginn, so daß man in dieser Gruppe von einer tendenziell „kränkeren“ Gruppe sprechen kann gegenüber der Betaferongruppe. Kränkere Patienten erhielten vermutlich ebenfalls eher eine Rebiftherapie, da es hier die Möglichkeit gab, später einmal auf eine höhere Dosis umzustellen. Hier sei erwähnt, daß in dieser Arbeit erstmalig zwei unterschiedliche Interferon-beta Medikamente in einer Studie untersucht wurden. Die Patienten der Rebifgruppe spritzten sich dreimal wöchentlich 22µg Rebif subkutan, was einer Wochendosis von 18 MIU biologischer Aktivität entspricht, und die Betaferongruppe spritzte sich jeden zweiten Tag acht Mio. Einheiten, was einer durchschnittlichen Wochendosis von 28 MIU biologischer Aktivität entspricht.

Der lange Beobachtungszeitraum, die große Anzahl der in die Studie integrierten Patienten und die ausführlichen dreimonatigen, bei Schüben auch noch zusätzlichen klinischen Untersuchungen, erhöhten weiterhin die Aussagekraft und das Gewicht der gewonnenen immunologischen Daten.

Da der EDSS-Score alle drei Monate zum Teil von unterschiedlichen Ärzten bestimmt wurde, ist eine unterschiedliche, subjektive Bewertung dieses Maßstabes nicht auszuschließen. Zur Objektivierung dieser Bewertung hielten sich alle Ärzte streng an die Definitionen des EDSS der Kurtzke Skala.

Eine weniger gute Anbindung der untherapierten Patienten an die Beobachtung war auch in dieser Studie möglich. Da diese Patienten keine Therapienebenwirkungen hatten und auch kein Rezept für ein Medikament benötigten, schien ihnen der Gang zum Arzt unter Umständen

unnötig. Somit mußten in der untherapierten Gruppe häufiger fehlende Proben und damit fehlende Labormesswerte mittels „Last Observation Carried Forward“ ergänzt werden.

Während unter dem Beobachtungszeitraum auftretende Schübe nicht bloß anamnestisch, sondern auch klinisch erhoben werden konnten, war die retrospektive Befragung der Patienten nach der Dauer ihrer Erkrankung und der Anzahl der Schübe vor Studienbeginn durch die subjektive Einschätzung der Patienten geprägt.

4.1.2 ELISA

Die Methode, immunologische im Serum lösliche Parameter mittels kommerziell erhältlichem ELISA zu bestimmen, ist eine bewährte etablierte Methode, die in vielen Labors durchgeführt wird. Um die Methode präzise anzuwenden, bedient man sich standardisierter Protokolle zur Messung und Auswertung der Daten. In dieser Arbeit wurde lediglich der sIL-4R mittels eines sog. Fertigkit gemessen. „Fertigkits“ enthalten, bis auf die eventuelle Auflösung oder Verdünnung einiger Produkte mit sterilem destilliertem H₂O, alle für den Test benötigten Lösungen. Bei den anderen Tests wurden die einheitlich verwendeten Lösungen wie Coating solution, Assay Buffer, Blocking solution, Stop Solution und der Wasch Buffer eigenhändig hergestellt. Hierzu wurden immer die gleichen Produkte von den gleichen Herstellern benutzt, um eventuelle Unterschiede der Produkte auszuräumen. Alle Lösungen wurden frühestens einen Tag vor Versuchsbeginn hergestellt und ihre richtige Zusammensetzung zusätzlich mittels geeichter PH-Elektrode überprüft. Weiterhin wurden diese Maßnahmen sowie veränderte Durchführungen der Tests z.B. Verlängerung der Inkubationszeit, um genauere Ergebnisse zu erhalten, nur nach Rücksprache der Firmen, von denen die Tests stammen, vorgenommen. Somit konnten Kosten eingespart werden, die durch den ausschließlichen Kauf von sogenannten „Fertigkits“ entstanden wären, ohne daß die ELISA´s ihre Verlässlichkeit verloren hatten.

Um die Verlässlichkeit der Versuche über den gesamten Meßzeitraum zu prüfen sowie eventuelle Änderungen der Meßparameterkonzentrationen durch die Aufbewahrung bei -20°C bis -70°C Grad auszuschließen, wurden in jedem Test zusätzlich immer ein bestimmter Patientenpool und für den TNF-RI und den TNF-RII die vom Hersteller zu beziehenden sogenannten „Kontrollen“, Lösungen bekannter Rezeptorkonzentrationen, mitgemessen. Unterschiedliche Konzentrationen eines Meßparameters in einer Testdurchführung wären dann sofort aufgefallen und der Test als nichtig erklärt. Eine Intraassaypräzision wurde für den sIL-4R, den sICAM-1, der auch stellvertretend für den sVCAM-1 und TNF-beta steht, und für den TNF-RI, der stellvertretend für den TNF-RII steht, durchgeführt. Somit konnte die Verlässlichkeit und Genauigkeit jedes

einzelnen Testsystems überprüft werden. Die große Anzahl der ELISA-Messungen und die noch größere Anzahl der Messungen zur Etablierung der Tests konnten eine Routine in der Durchführung der Tests erzielen und somit eine gleichbleibend hohe Qualität gewährleisten.

4.1.3 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse der Daten wurde von dem Institut für angewandte Statistik Dr. Jörg Schnitker GMBH, Bielefeld, durchgeführt. Zur Datenverarbeitung diente ihnen das Programm der SAS Online Doc, Version 8, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 1999. Das Institut ist unabhängig bezüglich einer Präferenz eines Interferon-beta Präparates sowie von einem eventuell gewünschten „Outcome“ der Studie.

Als Prüfparameter wurden die immunologischen Daten des ELISA's, der EDSS-Score nach Kurtzke, die Anzahl und Dauer der Schübe sowie die Nebenwirkungsraten verwendet.

Weitere Parameter, die in die Studie mit einfließen, waren das Geschlecht, das Alter zu unterschiedlichen Zeitpunkten, die Dauer der Erkrankung, die Begleiterkrankungen einschließlich zusätzlich eingenommener Medikamente sowie die Therapie mit Kortison.

Zur Zusammenfassung einzelner Daten und zur Darstellung einzelner Verläufe wurden jeweils Minimum, Maximum, Median, Mittelwert und die Standardabweichung einzelner Datengruppen bestimmt.

Für den Vergleich von Häufigkeitsverteilungen wie das Geschlecht, das Vorhandensein eines Schubes in einem Zeitraum, die Anzahl von Begleiterkrankungen und ihre zusätzlichen Medikamente sowie die Anzahl der mit Kortison behandelten Patienten wurde der χ^2 -Test angewandt. Für den parametrischen Vergleich stetiger Variablen wurde der t-Test angewandt, für den nicht-parametrischen Vergleich quasi-stetiger Variablen der U-Test, für Paare und zum Vergleich mehrerer Gruppen (global) untereinander der Kruskal-Wallis-Test. Der Wilcoxon-Test diente dem nicht-parametrischen Intragruppenvergleich.

Bei einem Signifikanzniveau von α gleich 0,05 konnten p-Werte kleiner als 0,05 als statistisch auffällig diskutiert werden.

Die Differenzen der immunologischen Parameter und die Änderungen des EDSS vor und nach einem Beobachtungsabschnitt sind unter der Berücksichtigung der Gruppierung „Untherapiert“, „Rebif“, „Betaferon“, des Auftretens von Schüben, der resultierenden Wechselwirkung sowie den Vorbefunden als Kovariate kovarianzanalytisch ausgewertet worden. (2-faktorielle Kovarianzanalyse)

Zur Orientierung wurden die Korrelationen der Laborparameter untereinander sowie der Laborparameter mit dem EDSS, von RRMS und von SPMS Patienten separat bestimmt. Hierzu wurde der nicht-parametrische Korrelationskoeffizient r_s , bei Test auf $r_s = 0$, nach Spearman bestimmt.

Zur Bestimmung der logistischen Regression der Inzidenzen von Schüben, grippaler Symptome und der Responderraten in Bezug auf Geschlecht, Alter bei Erstdiagnose, MS-Verlaufsformen, Anzahl der Schübe in den letzten zwei Jahren, dem EDSS zu Beginn der Beobachtung und den einzelnen immunologischen Laborparametern wurde die „odds ratio“ ermittelt. Dabei gilt, daß bei einer „odds ratio“ kleiner als 1, der Zustand $x_i = 1$, die Wahrscheinlichkeit für das Eintreten des Events gegenüber $x_i = 0$ verringert. Ist die „odds ratio“ größer als 1, so erhöht der Zustand $x_i = 1$ die Wahrscheinlichkeit für das Eintreten des Events gegenüber $x_i = 0$. Eine „odds ratio“ von 1 impliziert, daß mit dem Übergang von $x_i = 0$ nach $x_i = 1$ keine Veränderung der Eintrittswahrscheinlichkeit verbunden ist.

4.2 Unterschiede in den einzelnen Gruppen bezüglich der Messparameter

4.2.1 Unterschiede in der Immunparameterkonstellation zwischen Gesunden vs. MS Patienten, der spontane Verlauf der MS sowie die Unterschiede zwischen RRMS und SPMS Patienten

In dieser Arbeit wurden bezüglich des Geschlechtes und des Alters zwei relativ homogene Gruppen von 96 an Multipler Sklerose erkrankten Patienten mit 20 gesunden Probanden verglichen. Der prozentuale Anteil in jeder der beiden Gruppen von 75 - 80 % weiblichen Personen und 20 - 25 % männlichen Personen spiegelt die natürliche Geschlechterverteilung der MS wieder, die auch in den großen randomisierten, double-blind, Placebo kontrollierten Interferon-beta Studien beobachtet wurde. Hierzu ist zu bemerken, daß lediglich das mediane Alter, aber nicht der Altersdurchschnitt in dem Gesundenkollektiv im Alter von ≤ 30 Jahren etwas stärker frequentiert war. Die Vergleichbarkeit der MS Patienten mit dem Gesundenkollektiv war deswegen nicht wesentlich eingeschränkt.

Beim Vergleich dieser beiden Gruppen zeigten sich bei den MS Patienten leicht verringerte Konzentrationen für TNF-RII, deutlich verringerte Konzentrationen für sICAM-1 und TNF-RI und deutlich erhöhte Konzentrationen für sIL-4R. Für sVCAM-1 und TNF-beta zeigten sich in diesem Gruppenvergleich keine Unterschiede.

Ein solch signifikanter Unterschied in den immunologischen Parametern zwischen MS Patienten und gesunden Probanden zeigte, daß die Erkrankung zu einem deutlichen Eingriff in das Immunsystem führt.

Erhöhte sICAM-1 Konzentrationen gelten als verlässliche Marker für Entzündungsprozesse im ZNS, die mit einer Störung der Blut-Hirn-Schranke verbunden sind. Mehrere Studien berichten über erhöhte Konzentrationen von sICAM-1 im Serum, die positiv mit der Krankheitsaktivität korrelieren und besonders im akuten Schub nachzuweisen sind. Einige Studien zeigten ebenfalls eine erhöhte Konzentration von sICAM-1 im Serum oder Liquor von Multiple Sklerose erkrankten Patienten im Gegensatz zu gesunden Personen.^{126,127,187} Wiederum andere Studien konnten keinen sICAM-1 Unterschied zwischen den beiden Patientenkollektiven darstellen. Bezüglich der unterschiedlichen MS-Typen (RRMS vs. SPMS) konnten sich in dieser Studie keine signifikanten Unterschiede für alle gemessenen Parameter herausstellen. Flachenecker et al., die sICAM-1 bei RRMS-Patienten in Remission, RRMS-Patienten mit akutem Verlauf, SPMS-Patienten und einem gesunden Kollektiv bestimmt haben, konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede des Zytokins in diesen genannten Gruppen finden. Lediglich stellte sich das sICAM-1 in der Gruppe mit aktiver RRMS als erhöht heraus.¹⁸⁸

Es ist bekannt, daß ICAM-1 und VCAM-1 die T-Zell-Aktivierung stimulieren und die Migration von Lymphozyten ins ZNS induzieren.^{110,123} In einem akuten Entzündungsprozeß induziert der Anstieg von proinflammatorischen Zytokinen wie IFN-gamma und TNF-alpha eine erhöhte Konzentration von ICAM-1 auf den Endothelzellen und auch eine erhöhte Expression von LFA-1 auf den Lymphozyten. Somit kann es zu einer Adhäsion und Penetration der aktivierten Lymphozyten durch die Endothelzelle kommen. Direkt danach kommt es zu einem vermehrten „Shedding“ von sICAM -1.¹¹² sICAM-1 als Marker im akuten Schub kann als lösliches Molekül die Anhaftung der Lymphozyten an die Gefäße des ZNS blockieren und die autoimmune T-Zellproliferation unterdrücken.^{124,125} Vermutlich geschieht das durch die Bindung von sICAM-1 an das, an T-Zellen exprimierte, LFA-1. Es kommt zu einer Maskierung des LFA-1 und zu einer Reduktion der Entzündungsreaktion.¹²⁴ In dieser Studie korrelierte der Anstieg von sICAM-1 und sVCAM-1 im Serum mit einer Reduktion der Schubrate, was den oben genannten Mechanismus bestätigen könnte.

Für sVCAM-1 hingegen gibt es scheinbar mehrere Studien, die für dieses Adhäsionsmolekül, wie in unserem Fall, keinen signifikanten Anstieg im Blut nachweisen konnten.¹²⁸ Es gibt aber auch Studien, die signifikant erhöhte Spiegel für sVCAM-1 im Blut, besonders bei an Multipler Sklerose erkrankten Patienten, nachweisen konnten.^{111,118,131}

Auch für TNF-RI und TNF-RII gibt es zahlreiche Studien, bei denen zum Teil eine Korrelation der TNF-Spiegel mit der Krankheitsaktivität der MS beobachtet wurden. Auch hier gibt es kontroverse Studien bezüglich des Konzentrationsunterschiedes des TNF-Rezeptors bei gesunden Probanden und an MS erkrankten Patienten.^{189,190} Eher waren, wie schon beim sICAM-1, sich auch hier die Studien einig, daß die Konzentration des TNF-Rezeptors im akuten Schub deutlich erhöht sei.^{153,189} Auch Tsukada et. al. zeigte eine positive Korrelation der Erhöhung des sTNF-R im Liquor von MS Patienten im akuten Schub.¹⁸⁷

Weiterhin wurde in einer Studie demonstriert, daß die löslichen TNF-Rezeptoren die proinflammatorischen und zytotoxischen Effekte von TNF-alpha hemmen können. Sie scheinen die TNF-Aktivität beeinflussen zu können, indem sie durch ihre Bindung an das TNF-Zytokin die Konzentration der aktiven freien Form des TNF reduzieren. Somit könnten die sTNF-Rezeptoren die Aktivität der löslichen TNF-Zytokine (TNF-alpha, TNF-gamma) regulieren oder aber auch durch ihre Bindung die Halbwertszeit des gebundenen Zytokins verlängern. Eine Bindung der TNF-Zytokine bedeutet somit eine Inaktivierung des Zytokins, und als freie ungebundene Form sind TNF-gamma und TNF-alpha wieder aktiv.^{191,192} Unter anderem wird berichtet, daß die Gabe von löslichen TNF-Rezeptoren an EAE Modellen deutlich positive Effekte auf den Krankheitsverlauf der MS und die Demyelinisierung zeigte.^{146,147}

In dieser Studie unterschieden sich die Multiple Sklerose Patienten durch eine geringere Konzentration von TNF-RI und TNF-RII im Serum von dem gesunden Patientenkollektiv. Weiterhin konnte eine statistisch signifikante Abnahme von TNF-RII in dem ersten Jahr der Beobachtung untherapierter Patienten, die an MS erkrankt waren, gezeigt werden. Auch für den TNF-RI konnte andeutungsweise eine abnehmende Tendenz in diesem Jahr beobachtet werden, die aber statistisch nicht signifikant war. TNF-RI war in dem Vergleich des Gesundenkollektivs zu den MS Patienten schon vor dem Beginn der Studie vermindert und TNF-RII zeigte nun deutlicher im Laufe des ersten Beobachtungsjahres bei dem Spontanverlauf der MS eine statistisch signifikante abnehmende Tendenz. Somit könnte die Abnahme von sTNF-RI und sTNF-RII eine Verschlechterung der Multiplen Sklerose anzeigen.

Jurewicz et al. zeigten eine niedrigere Expression von TNF-RI bei MS Patienten im Gegensatz zu einer Kontrollgruppe, aber ein erhöhtes Shedding des TNF-RII bei MS Patienten.¹⁹¹

Rieckmann et al. beobachteten in ihrem Patientenkollektiv höhere sTNF-Rp60 Serumkonzentrationen bei Patienten mit stabiler MS im Vergleich zu Patienten mit aktiver MS. Weiterhin beobachteten sie den höchsten Konzentrationsanstieg des Zytokins circa vier Wochen nach einem Schubereignis. Hiermit schlussfolgerten auch sie, daß hohe Serumkonzentrationen von sTNF-Rp60 mit der MS in Remission assoziiert sind.¹²⁷

Der Einfluß von TNF-beta als ebenfalls proinflammatorisches, zytotoxisches Zytokin auf die MS wurde bislang in sehr wenigen Studien beobachtet. In der Studie von Glabinski wird über eine erhöhte Produktion von TNF-beta lediglich im Schub berichtet.¹⁴⁰ In der hier vorliegenden Studie konnte kein signifikanter Unterschied der löslichen TNF-beta Konzentration im Serum, weder zwischen dem Gesundenkollektiv und den an Multipler Sklerose erkrankten Patienten noch zwischen den zwei MS-Verlaufsformen gefunden werden. Ebenfalls zeigte sich keine Tendenz einer Konzentrationsänderung des TNF-beta innerhalb eines Jahres der MS Erkrankung. TNF-beta zeigte lediglich eine leichte Abnahme bei den späteren Therapiewechslern und eine leichte Zunahme bei den sog. 'Completer'. Die Gruppe der „Completer“ hatte eine sehr ähnliche Schubrate und einen annähernd gleichen EDSS wie die untherapierte Gruppe. Die „Wechsler“ hingegen zeigten einen höheren Behinderung sgrad und eine höhere Schubrate. In dieser Gruppe befanden sich demnach „kränkere“ Personen. Die Abnahme von TNF-beta könnte somit ein Indiz für eine Verschlechterung der MS sein. Da ein Teil der Patienten TNF-beta Konzentrationen hatten, die unter der Nachweisgrenze des ELISA Testsystems lagen, genießt dieser Parameter in der vorliegenden Studie nur eine begrenzte Aussagekraft.

Der sIL-4R wurde noch nicht in großen Studien bezüglich der MS untersucht, daher ist seine Funktion auch noch nicht genau bekannt. Man sagt, daß er die Aktivität des antiinflammatorischen IL-4, eventuell durch seinen neutralisierenden Effekt, negativ beeinflusst.¹⁹³⁻¹⁹⁵ Andere Studien berichten aber, daß er den IL-4 durch seine Bindung vor seinem Abbau schützt und somit seine biologische Aktivität beibehält beziehungsweise als Karrierprotein seine Halbwertszeit verlängert.¹⁶¹ Aus weiteren Studien ist zu entnehmen, daß das Verhältnis von IL-4 zum sIL-4R in der Umgebung für seine Wirkung entweder aktivitätsfördernd oder aktivitätshemmend sei. In hiesiger Studie wurde eine signifikant höhere Konzentration von sIL-4R bei den MS-Patienten gegenüber den gesunden Probanden nachgewiesen. Der sIL-4R stieg, wenn auch nicht signifikant, mit zunehmender Erkrankungsdauer an. Er stieg aber signifikant mit zunehmender Schubzahl an. Der Baselinewert der untherapierten Gruppe zeigte deutlich niedrigere Konzentrationen des sIL-4R als die spätere Therapiegruppe. Geht man davon aus, daß die spätere Therapiegruppe „kranker“ ist als die Vergleichsgruppe, zeigt ein höherer Wert des sIL-4R eine Verschlechterung der Multiplen Sklerose Erkrankung an.

4.2.2 Unterschiede zwischen RRMS versus SPMS

Der klinische Vergleich dieser beiden Verlaufstypen der MS gab in unserer Studie die charakteristischen Merkmale ihrer Typen wieder. Die SPMS Patienten zeigten eine geringere Schubzahl und eine längere Dauer ihrer Erkrankung, durch die vermutlich auch die wesentlich höheren EDSS-Scores bedingt sind. Interessant war auch die leicht erhöhte Schubdauer während der Erkrankung in den letzten 2 Jahren. Das höhere Alter bei Studienbeginn ist scheinbar auf die zeitlich spätere Entwicklung der SPMS, nämlich aus der RRMS heraus, erklärbar. Das höhere Alter bei der Erstdiagnose MS kann noch auf den früheren, zum Teil auch jetzt noch vorhandenen, schlechten Bekanntheitsgrad der Erkrankung als solches zurückzuführen sein oder auch auf die früher noch unzugänglichen Diagnosemöglichkeiten. Somit besteht in diesen genannten Merkmalen eine Strukturinhomogenität zwischen den RRMS und den „kränkeren“ SPMS Patienten.

Bezüglich aller gemessenen immunologischen Parameter konnten sich keine signifikanten Unterschiede in den Konzentrationen der Immunparameter nachweisen lassen.

4.2.3 Änderung des EDSS-Scores, der Schubfrequenz und der Immunparameter unter der Interferontherapie

Auf Grund der in dieser Studie festgelegten Einschlusskriterien eine Therapie zu beginnen sowie der individuellen Entscheidung des Patienten zu einer Therapie zeigte die untherapierte Gruppe, wie zu erwarten war, einen geringeren EDSS, eine marginal geringere Dauer der Erkrankung sowie eine geringere Anzahl der Schübe in den letzten Jahren vor Studienbeginn. Hier sei noch einmal darauf hingewiesen, daß die Patienten selbst entscheiden konnten, ob sie eine Interferontherapie, deren Wirkung in großen randomisierten, doppelt verblindeten, Placebo kontrollierten Studien nachgewiesen wurde, beginnen wollten. Es wurde den Patienten empfohlen, erst dann eine Therapie zu beginnen, wenn sie eine klinisch gesicherte Multiple Sklerose und in den letzten zwei Jahren mindestens zwei Schübe bei erhaltener Gehfähigkeit hatten. Dies entsprach dem damaligen Kenntnisstand zur Bestimmung des Zeitpunktes, eine optimale Interferontherapie zu beginnen. Meistens entscheiden sich die Patienten für eine Therapie, wenn sie durch die Multiple Sklerose in ihrem alltäglichen Leben stärker behindert sind, das heißt, wenn sie häufigere oder schwerere Schübe bekommen oder der EDSS-Score ansteigt. Somit sind in den Therapiegruppen eher „leicht kränkere“ Patienten. In dieser Studie

scheint die untherapierte Gruppe entweder erst am Anfang der Erkrankung zu stehen oder einen milderen Verlauf der Multiplen Sklerose zu haben.

Bezüglich des EDSS-Scores im Beobachtungszeitraum eines Jahres zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den nicht therapierten und den mit Interferon therapierten Patienten. Auch hier gibt es Studien, die ebenfalls keine Veränderungen, wie die dreijährige Studie der IFNB Multiple Sclerosis Study Group, nachweisen konnten.⁶⁶ Wiederum andere Studien beweisen nahezu eine deutliche Verzögerung der Krankheitsprogression beziehungsweise eine Verzögerung der Verschlechterung des EDSS-Scores unter Interferon. Bei der Studie von Liu et. al. wurden zum EDSS Score auch andere „Rating Scales“ wie der SNRS (Scripps neurologic rating scale) und der AI (ambulation index) benutzt.^{68,125,182} Es wäre möglich, daß zur Beurteilung der Krankheitsprogression an Hand des EDSS Verlaufes ein ein- bis zweijähriges Zeitintervall zu kurz ist, denn der EDSS Score verändert sich recht langsam, besonders nachgewiesenermaßen unter Therapie. An dieser Stelle soll darauf hingewiesen werden, daß in dieser Studie verschiedene Ärzte den dreimonatlichen EDSS-Score festlegten und obwohl sich alle Ärzte streng an die Kurtzke-Skala gehalten hatten, dennoch eine subjektive Bewertung der Patienten vorlag. Wie auch in vielen anderen Studien beschrieben und unter Interferon beobachtet, konnte die durchschnittliche Reduktion der Schübe um 30% auch in dieser Studie beobachtet werden.^{66,68} Hier wurden die Schübe der Patienten zwei Jahre vor Therapiebeginn zu den Schüben unter der einjährigen Rebiftherapie oder Betaferontherapie in Beziehung gesetzt. Somit ergab sich unter Therapie für das Patientenkollektiv der Rebifgruppe eine Schubreduktion um 38% und für die Betaferongruppe eine Schubreduktion um 39%. In der zwei- bis dreijährigen Studie der IFNB Multiple Sclerosis Study Group, in der die Schübe in schwer, mittelschwer und mild eingeteilt wurden, zeigte sich besonders auffällig ein Rückgang der schweren bis mittelschweren Schübe.⁶⁶

In hiesiger Studie konnte signifikant nachgewiesen werden, daß an Multiple Sklerose erkrankte Patienten deutlich höhere Konzentrationen von sIL-4R im Serum haben. Weiterhin zeigte die zukünftige „kränkere“ Therapiegruppe höhere sIL-4R Werte als die „gesündere“ Gruppe, die später nicht mit Interferon therapiert wurde. Unter Therapie mit Betaferon kam es nun zu einem deutlichen Rückgang des sIL-4R im ersten und zweiten Jahr des Beobachtungszeitraumes.

Somit ist der sIL-4R in dieser Studie bei MS-Patienten höher als bei gesunden, nicht an MS erkrankten Patienten und ebenfalls höher bei den scheinbar „kränkeren“ Patienten der zukünftigen Therapiegruppe, im Gegensatz zu der untherapierten Gruppe. Unter Rebif kam es kaum zu Konzentrationsveränderungen. Eine leichte Konzentrationsabnahme des sIL-4R zeigte sich in der untherapierten Gruppe. Cannella et al. beobachteten eine erhöhte Expression von IL-4

im ZNS Gewebe von an Multiple Sklerose erkrankten Menschen.⁹³ Navikas et al. konnte im Serum an MS leidenden Menschen keine erhöhte Konzentration von sIL-4 finden.⁹⁰ Mehrere Studien zeigten, wie auch die von Jung et al., daß der sIL-4R die IL-4 gesteuerte Proliferation der T-Zellen hemmen kann. Jung et al. wiesen nach, daß die IL-4R Produktion der Zellen abhängig von der T-Lymphozytenaktivierung, des IL-4, der IFN-gamma Produktion und der Aktivierung der MMP ist. Weiterhin wird vermutet, daß der menschliche sIL-4R aus proteolytischer Spaltung des zellgebundenen Rezeptors entsteht und die Produktion des sIL-4R durch die Freisetzung des IFN-gamma von aktivierten autoreaktiven T-Lymphozyten verstärkt wird. Die MMP sind dann für das „Shedding“ des sIL -4R verantwortlich.¹⁵⁹

Überträgt man diesen Mechanismus kurz zusammengefasst auf die Multiple Sklerose, so tragen scheinbar aktivierte autoreaktive T-Zellen, IFN-gamma und MMP zur vermehrten Produktion des sIL-4R bei der MS bei. In hiesiger Studie gingen hohe Konzentrationen des sIL-4R mit einer Verschlechterung der Multiplen Sklerose einher und niedrigere Konzentrationen, die unter der Betaferontherapie beobachtet werden konnten, mit einer Reduktion der Schubfrequenz einher.

Bei der kutanen Leishmaniose sowie bei allergischem Asthma zeigte die Gabe von sIL-4R einen therapeutischen Effekt auf den Krankheitsverlauf, der vermutlich auf dem neutralisierenden Effekt des sIL-4R auf den IL-4 beruht.^{194,196} Ma et al berichten, daß es von dem Verhältnis der IL-4/sIL-4R-Konzentration abhängig ist, ob der sIL-4R den Effekt von IL-4 steigert oder hemmt. Weiterhin wird beschrieben, daß der sIL-4R durch die Bindung des IL-4, die Halbwertszeit des IL-4 verlängern kann.¹⁹⁷ Chilton et al. fanden heraus, daß der sIL-4R und die membrangebundene Form, der mIL-4R, parallel zueinander reguliert werden. Die Wirkung von IL-4 wird demnach durch die an den Zielzellen exprimierten mIL-4R positiv und durch die Anwesenheit von sIL-4R in der extrazellulären Umgebung negativ beeinflusst.¹⁹⁵ Fernandez-Botran et al. berichteten zudem noch darüber, daß der IL-4 mit ungefähr gleicher Affinität an den sIL-4R und an den mIL-4R gebunden wird.¹⁵⁷ Somit scheint wieder das Konzentrationsverhältnis der drei Zytokine untereinander letztendlich für die Wirkung des IL-4 verantwortlich zu sein.

Geringe Konzentrationen von sIL-4R verstärken die antagonistische Aktivität des IL-4 auf die IFN-gamma Produktion, und es kommt zu einem Rückgang der Entzündung. Der sIL-4R scheint hierbei als Karrierprotein zu fungieren. Hohe Konzentrationen des sIL-4R neutralisieren IL-4. Dadurch wird der IL-4 inaktiviert und kann die IFN-gamma Produktion nicht mehr antagonisieren. Daraus resultierend kommt es zu einer proinflammatorischen Wirkung.^{155,160}

In hiesiger Studie konnte ein sogenannter Grenzwert für sIL-4R ermittelt werden, bei dem das Risiko, einen Schub zu erleiden, deutlich erhöht oder vermindert war. Dieser liegt bei sIL-4R = 1000pg/ml. Die „Wechsler“ zeigten bei vermehrten Schüben eine Baselinekonzentration von

sIL-4R > 1000pg/ml und die „Completer“ bei stabilem Krankheitsverlauf eine Baselinekonzentration von sIL4R < 1000pg/ml. Die logistische Regression ausgewählter Variablen ergab für den sIL-4R \geq 1000pg/ml als Baselinewert ein signifikant erhöhtes Risiko für das Auftreten von Schüben. (p=0,0044; odds ratio 4,577) Weiterhin zeigte diese Studie, daß die Responderraten bei einer Konzentration des sIL-4R > 1000pg/ml vor Therapiebeginn signifikant herabgesetzt waren und Werte von sIL-4R < 1000pg/ml die Therapiresponse erhöhen.

Betrachtete man den TNF-beta vor Therapiebeginn, zeigte dieser für die untherapierte Gruppe relativ höhere Ausgangswerte als bei den späteren Therapiegruppen.

Für die übrigen gemessenen Parameter sICAM-1, sVCAM-1, TNF-RI und TNF-RII ergaben sich bei den Multiple Sklerose Patienten vor Therapiebeginn keine Gruppenunterschiede. Durch diese Strukturgleichheit bestand eine gute Ausgangsposition, die Konzentrationsänderungen dieser Parameter zwischen den einzelnen Gruppen unter Einfluß einer Therapie zu vergleichen.

Im Verlauf der einjährigen Beobachtung der drei Gruppen zeigten sICAM-1, TNF-beta und sTNF-RI keine statistisch relevanten Konzentrationsänderungen innerhalb der untherapierten Gruppe, aber auch keine im Vergleich der untherapierten Gruppe mit der Rebif- oder Betaferongruppe. Auch der direkte Vergleich der Rebif- mit der Betaferongruppe zeigt keinen Unterschied. In dem ersten Jahr fanden sich unter Interferon-beta für diese drei Immunparameter keine Auffälligkeiten. In dem zweijährigen Beobachtungszeitraum unter Betaferon kam es dann auch zu einem statistisch signifikanten Anstieg des sICAM-1 und des TNF-beta.

Auch Calabresi et al. konnten bei Patienten mit gesicherter Multiplen Sklerose vor und unter Therapie mit Betaferon keine Konzentrationsunterschiede von sICAM-1 und TNF-R60kd nachweisen. Der Beobachtungszeitraum ihrer Studie betrug maximal ein Jahr, und sie bestand aus einem kleinen Patientenkollektiv von 11 MS Patienten und acht gesunden Probanden.¹³⁶

sVCAM-1 hingegen zeigte in den Gruppen unter Interferon eine signifikant deutliche Zunahme, wohingegen die Konzentration von sVCAM-1 bei der untherapierten Gruppe nur gering war. Es ergaben sich aber keine Unterschiede im Vergleich der beiden Therapiegruppen untereinander. Calabresi et al. wiesen in ihrer Studie ebenfalls unter einer Betaferontherapie einen Anstieg von sVCAM-1 bei MS Patienten nach und konnten zudem noch eine positive Korrelation des sVCAM-1 Anstieges, mit einer Abnahme an demyelinisierenden Herden im ZNS, an Hand von MRT-Aufnahmen nachweisen.¹³⁶ Es gibt noch weitere Studien, die einen sVCAM-Anstieg unter einer Interferontherapie zu verzeichnen hatten. Ossege et al. wiesen über dem gesamten sechsmonatigen Behandlungszeitraum mit Interferon beta-1a erhöhte sVCAM-1 Konzentrationen im Patientenserum nach.¹³⁵ Deisenhammer et al. zeigten in einem großen Patientenkollektiv erhöhte sVCAM-1 Konzentrationen über den ein- bis zweijährigen Verlauf

der mit Rebif und Betaferon therapierten MS Patienten. Acht MIU Betaferon brachten zudem noch höhere sVCAM-1 Konzentrationen als sechs MIU Rebif.¹⁹⁸

Es wurde in mehreren Studien nachgewiesen, daß durch die Bindung von ICAM-1 und VCAM-1, exprimiert an Endothelzellen, mit den passenden Liganden LFA-1 und VCA-4 an den T-Zellen, sich diese an das Endothel anhaften. Als aktivierte T-Zellen können sie dann leichter die Blut-Hirn-Schranke penetrieren.^{110,199-201} Nach diesem Vorgang kommt es zu einem schnellen „shedding“ von ICAM-1 und VCAM-1, die so als sICAM-1 und sVCAM-1 im Blut nachzuweisen sind.¹¹⁸ Hummel et al. berichten darüber, daß die Matrixmetalloproteinasen das Shedding der Adhäsionsmoleküle deutlich mitbewirken.²⁰² Es wurde in mehreren Studien eine Korrelation von erhöhten sVCAM-1 und sICAM-1 Konzentrationen im Blut bei einem akuten Schub vorgefunden. Hartung et al. zeigten deutlich erhöhte sICAM-1 Konzentrationen im Blut von MS Patienten mit zur Zeit klinisch aktiver MS oder anreichernden Läsionen im MRT.¹²⁶ Mossner et al. fanden, im Gegensatz zur gesunden Kontrollgruppe, im Serum von MS Patienten mit aktiven Gd-DTPA anreichernden Herden im MRT deutlich erhöhte Konzentrationen von sVCAM-1.¹³² Matsuda et al. wiesen im Serum von MS Patienten in einem akuten Schub deutlich erhöhte Konzentrationen von sVCAM-1 nach.¹³⁴ Wie auch in dieser Studie konnten auch Ossege et al. über den gesamten Therapieverlauf bei den MS Patienten unter Betaferon einen Konzentrationsanstieg von sVCAM-1 im Serum nachweisen.¹³⁵ sVCAM-1 zeigte in hiesiger Studie schon im ersten Therapiejahr einen Konzentrationsanstieg, wohingegen sICAM-1 erst im zweiten Jahr unter Betaferon einen signifikanten Konzentrationsanstieg zeigte. Man kann aus dieser Studie entnehmen, daß ein Anstieg von sICAM-1 sowie auch von sVCAM-1 unter Therapie mit einer Reduktion der Schubrate korreliert. Calabresi et al. konnten ebenfalls einen deutlichen sVCAM-1 Anstieg unter Interferon beta-1b bei allen 11 therapierten Patienten über einen Zeitraum von einem Jahr im Serum nachweisen. Es zeigte sich aber kein Effekt innerhalb eines Jahres unter Therapie für die Konzentration von sICAM-1 und von TNF-R60kd. Calabresi et al. zeigten weiterhin eine Korrelation zwischen dem Anstieg des sVCAM-1 und der Abnahme von kontrastanreichernden Herden im ZNS mittels MRT.¹³⁶ Trojano et al. konnten in ihrer 12-monatigen Beobachtung von 36 RRMS Patienten unter Therapie mit Interferon beta-1b einen signifikanten Anstieg von sICAM-1 im Patientenserum nachweisen, der ebenfalls mit einer Abnahme von Gd-anreichernden Herden in MRT Untersuchungen des ZNS einhergeht.²⁰³ Vielleicht läßt sich daraus schließen, daß eine Interferontherapie das Shedding von VCAM-1 und ICAM-1 verursacht und somit durch einen Mangel an VCAM-1 oder ICAM-1 an den Endothelzellen die T-Zell Penetration erschwert wird. Es ist auch möglich, dass sich die freilöslichen Adhäsionsmoleküle sICAM-1 und sVCAM-1 an ihre freien Liganden binden und sie dadurch deaktivieren.²⁰³

Andere Studien zeigten, daß durch eine Vorbehandlung von Antigen präsentierenden Zellen mit Interferon die ICAM-1 Expression an Endothelzellen zu 35 - 40% und der durch INF-gamma getriggerte Anstieg der T-Zell-Aktivität zu 50 – 70% vermindert wird.^{167,203} Rieckmann et al. zeigten in ihrem Versuch, daß sICAM-1 dazu fähig ist, die Lymphozytenadhäsion an Gehirndothelzellen dosisabhängig zu blocken.¹²⁴ Somit könnte auch die leichte Zunahme von sVCAM-1 ein Gegenregulationsvorgang des Immunsystems sein, die Entzündung oder den Eintritt von Lymphozyten ins ZNS zu hemmen. Die deutlich erhöhte Zunahme von sVCAM-1 unter Therapie könnte ein supportiver, das Immunsystem regulierender Faktor sein, um die Blut-Hirn-Schranke zu stabilisieren. Auch hier wäre eine kompetitive Hemmung durch Bindung des sICAM-1 oder des sVCAM-1 mit den an den T-Zellen passenden Liganden LFA-1 oder VCA-4 denkbar. Greenwood et al. zeigten in einer Laborversuchsreihe, daß anti-VLA-4, anti-VCAM-1 und anti-ICAM-1 die Migration der T-Zell-Lymphozyten durch die Endothelzellen vermindert.¹¹⁰ Aber auch zahlreiche andere Mechanismen, wie eine Reduktion der MMP-9 durch Interferon-beta, können ursächlich für eine verminderte Infiltration der Lymphozyten ins ZNS sein.^{115,168}

Vergleicht man in dieser Studie das Gesundenkollektiv mit den an MS erkrankten Patienten, zeigen die MS-Patienten eine geringere Konzentration von TNF-RII. Über den einjährigen Beobachtungszeitraum kommt es in der untherapierten Gruppe von MS-Patienten zu einer weiteren deutlichen Abnahme der TNF-RII Konzentration. Rieckmann et al. zeigten in ihren Messungen eine höhere Konzentration von sTNF-Rp60 bei Patienten mit einer zur Zeit klinisch stabilen MS, im Vergleich zu Patienten mit einer aktiven Krankheitsprogression. Sie beschrieben eine Assoziation von hohen sTNF-Rp60 Konzentrationen und der Multiplen Sklerose in Remission.¹²⁷ Unter Interferon-beta kam es nun in dieser Studie zu einer signifikanten Zunahme der sTNF-RII Konzentration und zu einer deutlichen Reduktion der Schübe. Somit kann eine abnehmende Konzentration an sTNF-R als Erkrankungsmerkmal einer Multiplen Sklerose gelten. Perini et al. verzeichneten ebenfalls in ihrer Studie unter einwöchiger i.m. Gabe von Interferon-beta 1a einen Konzentrationsanstieg von sTNF-alpha RI und sTNF-alpha RII im Serum der MS-Patienten.¹⁵⁴ Ossege et al. zeigten in ihrer Studie lediglich am Beginn der Therapie mit Interferon-beta 1b einen Konzentrationsanstieg von sTNF-alpha RI.¹³⁵

Andere Studien berichteten über einen Anstieg von sTNF-R60kd im Serum oder Liquor während eines Schubes. Rieckmann et al. beobachteten die höchsten Konzentrationen des sTNF-Rp60 vier Wochen nach dem Beginn eines Schubes.¹²⁷ Matsuda et al. wiesen in ihrer Studie ebenfalls besonders hohe sTNF-R Konzentrationen bei MS Patienten während eines Schubes nach.¹⁸⁹ Weiterhin wird berichtet über einen sTNF-RI und sTNF-RII Anstieg bei Patienten mit einer

chronischen Verlaufsform der MS im Gegensatz zu Patienten, deren MS in Remission ist.^{153,187} Betrachtet man diese Ergebnisse genauer, muß man erwähnen, daß Tsukada¹⁸⁷ und Matsuda¹⁸⁹ den sTNF-R60kd bestimmt haben und nicht unterschieden haben zwischen sTNF-RI und II.

Es gilt so gut wie bewiesen, daß es vor einem Schub bei der Multiplen Sklerose zum Anstieg von TNF-alpha, IFN-gamma und anderen proinflammatorischen Zytokinen kommt.^{90,93,152} Beck et al. fanden in ihrer longitudinalen Studie heraus, daß die IFN-gamma und TNF Produktion zeitlich den klinischen Schüben vorausseilen. In milden Fällen verschwand die Zytokinerhöhung noch vor dem Auftreten klinischer Symptome.¹⁴⁸ Weiterhin wurde herausgefunden, daß der größte Konzentrationsanstieg von TNF-alpha bei Patienten im Schub sowie bei Patienten mit chronisch progredienter Multiplen Sklerose vorliegt.¹⁵⁰ Patienten mit einer sog. „stabilen“ MS (Patienten mit wenig Schüben) haben eine TNF-alpha-Konzentration, die dem gesunden Menschen nahe kommt.¹⁴⁹ Masinovsky et al. fanden heraus, daß IFN-gamma und TNF-alpha die Adhäsion der Lymphozyten an die Endothelzellen der Blut-Hirn-Schranke begünstigen.²⁰⁴ Akassoglou et al. berichteten darüber, daß TNF über transmembranöse TNF-RI die Apoptose von Oligodendrozyten, die Endothelzellaktivierung, die Parenchymenzündung und die Demyelinisierung triggern kann und über den transmembranösen TNF-RII ebenfalls proinflammatorische Wirkungen vermittelt.²⁰⁵

Jurewicz et al. zeigten, daß die sTNF-R die TNF Aktivität regulieren können und wiesen in ihrer Studie bei MS Patienten ein erhöhtes Shedding von TNF-RII nach.¹⁹¹ Die sTNF-R können durch ihre Bindung an den TNF-alpha seine Aktivität hemmen. Binden sie TNF-alpha nicht, so kann er als aktive Form weiter funktionieren und über die Zelloberflächenrezeptoren mTNF-RI(p55) und mTNF-RII(p75) seine Aktivität ausführen. Die löslichen Formen der TNF-Rezeptoren entstehen durch „shedding“ und sind so im Blut frei zirkulierend nachweisbar.¹⁹¹ Falls die Interferone, wie in dieser Arbeit und auch in anderen Studien gezeigt,²⁰⁶ durch ihre Applikation das Shedding der membranösen TNF-R oder die vermehrte Produktion dieser Rezeptoren bewirken, ist dies eventuell einer der möglichen Mechanismen, wie Interferone in das Immunsystem der an MS erkrankten Menschen eingreifen. Der Mechanismus, wie die Interferone es bewerkstelligen, den sTNF-RII hoch zu regulieren, ist noch unklar.

Verabreichte man an EAE erkrankten Lewis Ratten TNF-RI, der an IgG1 gekoppelt war, schützte dieses Präparat die Tiere vor weiteren klinischen Zeichen der EAE beziehungsweise konnte es die Schwere der EAE deutlich reduzieren.¹⁴⁶

Somit zeigte die Gabe von TNF-Rezeptoren im EAE Tiermodell einen deutlich positiven Effekt für den Krankheitsverlauf der Tiere.

4.2.4 Änderung einzelner Parameter unter zweijähriger Betaferontherapie der RRMS Patienten

Wie auch in der IFNB MS-Study Group, konnte auch in dieser Studie unter zweijähriger Beobachtung der mit Betaferon therapierten RRMS Patienten keine Änderung des EDSS nachgewiesen werden.⁶⁶ Somit kam es unter der Therapie auch nicht zu einer Verschlechterung der Krankheitsprogression nach dem EDSS. Dieses spricht nicht gegen die Behandlung der RRMS Patienten mit einem Interferonpräparat wie Betaferon. Es unterstützt eher die These großer Studien, nach denen das Betaferon die Krankheitsprogression der RRMS verlangsamt.

Die PRISMS-4 Study Group zeigte unter ihrer vierjährigen Therapie mit Interferon-beta-1a (44µg), daß sich bei den mit Interferon therapierten RRMS Patienten, im Vergleich zu den erst später behandelten RRMS Patienten, die Krankheitsprogression um 18 Monate verzögert.¹⁸⁰

Leider gibt es in hiesiger Studie keinen Vergleich mit einer untherapierten RRMS Patientengruppe über den Zweijahresverlauf. Die Durchführung einer Studie, die behandelte mit unbehandelten RRMS Patienten über einen Zeitraum von 2 Jahren beobachtet, wäre, da es nachweislich gute Therapiemethoden für diesen MS-Typ gibt, ethisch nicht mehr vertretbar. Die Reduktion der Schübe unter Therapie konnte auch über den zweijährigen Verlauf weiter beobachtet werden, was sich ebenfalls in den großen klinischen Studien widerspiegelt. Jacobs et al. zeigten in ihrer randomisierten, double blind, Placebo kontrollierten, multicenter Phase III Studie über die zweijährige Therapie von MS Patienten mit Interferon-beta 1a (30µg) eine jährliche Schubrate von 0,61, im Gegensatz zu der Placebo Gruppe mit einer jährlichen Schubrate von 0,90.⁶⁸ Die IFNB Multiple Sclerosis Study Group zeigte unter Interferon-beta 1b (8 MIU) eine Schubrate von 0,84 im Vergleich zur Placebogruppe mit einer Schubrate von 1,27 pro Jahr. Betrachtet man die Reduktion der schweren Schübe in der Interferon beta-1b (8 MIU) Gruppe, zeigte diese annähernd eine zweifache Reduktion der Häufigkeit, einen mittelschweren bis schweren Schub zu erlangen.⁶⁶

Beobachtet man in hiesiger Studie die über den Zeitraum von zwei Jahren gemessenen Immunparameter der RRMS Patienten unter Betaferon, wird für sVCAM-1 und für TNF-RII der schon innerhalb des ersten Jahres beobachtete Trend fortgesetzt. sVCAM-1 nahm im ersten Therapiejahr leicht und TNF-RII stark zu. Aber beide Parameter erfuhren kaum noch eine Zunahme im zweiten Jahr der Betaferontherapie. Hierbei muß hinzugefügt werden, daß nur die Zunahme von TNF-RII, über zwei Jahre gesehen, statistisch signifikant war.

sVCAM-1 bot keinen Unterschied zwischen den Baselinewerten der MS Patienten und dem Gesundenkollektiv, wohingegen TNF-RII leicht verringerte Werte im MS Kollektiv aufwies. sVCAM-1 und TNF-RII zeigten aber unter der mit Interferon-beta therapierten RRMS-Gruppe

eine Zunahme ihrer Konzentration, die über eine längere Zeit andauert. TNF-RI zeigte auch über den zweijährigen Verlauf der RRMS Patienten mit Betaferontherapie, wie auch schon in der einjährigen Therapie der RRMS Patienten bewiesen wurde, in dieser Studie keine Konzentrationsänderung. Ossege et al. berichteten, daß TNF-RI nur vorübergehend in den ersten Tagen nach Therapiebeginn erhöht war. Das könnte erklären, daß in hiesiger Studie, in der die Serumproben in dreimonatigen Abständen bestimmt wurden, dieser kurz andauernde Effekt nicht nachweisbar war.¹³⁵ Laske et al. zeigten hingegen unter Interferon-beta 1b Therapie über einem Zeitraum von einem Jahr zu der Konzentrationserhöhung von sTNF-RII auch eine Konzentrationszunahme von sTNF-RI.²⁰⁶

Eine Konzentrationszunahme konnte im ersten und im zweiten Jahr bei sICAM-1 und bei TNF-beta unter Betaferon beobachtet werden. Ihre Konzentrationszunahme war über zwei Jahre gesehen ebenfalls statistisch signifikant, was bei der einjährigen Beobachtung der RRMS Patienten nicht der Fall war. Zu diesen Parametern gibt es in der Literatur viele unterschiedliche Ergebnisse, wobei die Parameter häufig nicht, wie in hiesiger Studie, über einen so langen Zeitraum von 2 Jahren bestimmt wurden. Es scheinen Immunparameter zu sein, die sich erst unter einer länger andauernden Interferontherapie verändern.

Kilinc et al. wiesen schon in den ersten drei Monaten einen Anstieg von sICAM-1 bei RRMS-Patienten unter Betaferon nach, wohingegen in hiesiger Studie der Anstieg erst über den Zweijahresverlauf statistisch signifikant wurde.²⁰⁷ Calabresi et al. konnte in seiner Studie keinen Einfluß des Betaferons über eine Therapiezeit von einem Jahr auf die sICAM-1 Konzentration im Patientenblut nachweisen.¹³⁶ Rothuizen et al. zeigten in den ersten 24 - 48 Stunden nach jeder Interferon-beta 1a Gabe eine Abnahme des TNF-beta, was bedeuten könnte, daß die TNF-beta Zunahme in der hiesigen Studie erst nach dem ersten Jahr im zweijährigen Verlauf signifikant war.¹⁸³

Die sIL-4R Konzentration nahm sowohl im ersten sowie im zweiten Behandlungsjahr deutlich ab. Über beide Jahre gesehen zeigt sie folglich eine statistisch signifikante Konzentrationsabnahme in beiden Jahren. Im Gegensatz zu dem Gesundenkollektiv wiesen die MS Patienten erhöhte Zytokinwerte des sIL-4R auf. Unter der Betaferontherapie der RRMS Patienten, nicht unter Rebif, nahm der sIL-4R im zweiten Jahr weiterhin ab. Rebif hingegen zeigte keinen Effekt bezüglich dieses Parameters, was vielleicht auf die geringere Dosierung des Medikamentes Rebif in hiesiger Studie zurückzuführen ist. Wie in mehreren großen Studien gezeigt, gab es für die Interferone einen deutlichen Dosis-Wirkungs-Effekt zu Gunsten der höheren Dosierung.

4.2.5 Unterschiede zwischen Rebif und Betaferon bezüglich Nebenwirkung und Wirkung

Die Nebenwirkungen der beiden Therapeutika sind in ihrer Art und Häufigkeit annähernd gleich. Innerhalb des ersten Jahres klagten 85,2% der Rebifpatienten und 91,4% der Betaferonpatienten über Nebenwirkungen. Für Betaferon wurden bis zu 4 Symptome und für Rebif bis zu zwei Symptome gleichzeitig angegeben. Die Tendenz, daß Betaferon mehr Nebenwirkungen aufweist als das niedriger dosierte Rebif, kann ein zufälliger Befund sein oder an der höheren Dosierung von Betaferon liegen. Es wurde beobachtet, daß beim Beginn der Therapie mit hohen Interferondosen häufiger Nebenwirkungen auftraten als beim Einschleichen der Therapie bis auf eine hohe Dosis. Vielleicht ist Betaferon aber auch durch seine Herstellung oder durch seine dem humanen Interferon stärker abgewandelte Struktur eher prädisponiert dazu, Nebenwirkungen zu entwickeln.

Im zweiten Jahr der Behandlung gingen die Nebenwirkungen unter Betaferon dann deutlich auf 68,8% zurück.

Zum Vergleich der Schubfrequenz der Patienten unter den unterschiedlichen Interferontherapien wurden sogenannte Responderraten errechnet. Um die Anzahl der sogenannten Responder zu ermitteln, wurde die Schubanzahl vor Studienbeginn mit der Schubanzahl unter Beobachtung oder Behandlung stehender MS-Patienten verglichen. Die Anzahl der Schübe in den letzten 2 Jahren (= 730 Tage) vor Studienbeginn wird herangezogen, um „Responder“ wie folgt zu definieren:

$$\text{Referenz} = \frac{\text{Anzahl} \times \text{Dauer [Tage]}}{730 \text{ [Tage]}}$$

Für jeden Patienten wurde die Anzahl der Schübe der letzten zwei Jahre (=Anzahl) mit der Dauer der Beobachtung/ Behandlung in Tagen (=Dauer) proportional auf ein Intervall gleicher Länge umgerechnet. Somit ergab sich ein „Referenzwert“, der zur weiteren Ermittlung der Responderraten diente. Vergleich man nun die Anzahl der Schübe im Beobachtungs-/ Behandlungszeitraum (=Schübe) eines jeden Patienten mit dem Referenzwert

Responder [Schubfrequenz]: Schübe < Referenz
Nonresponder [Schubfrequenz]: Schübe \geq Referenz,

so ließen sich folgende Responderraten für die Anzahl der Schübe ermitteln:

Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen 49% Responder in der untherapierten Gruppe und 77,8% Rebif- beziehungsweise 72,2% Betaferonresponder. Es konnte aber kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Therapieformen gefunden werden.

Zur Berechnung eines Responders bezüglich der Schubdauer wurde der Referenzwert entsprechend der Schubfrequenz ermittelt. Weiterhin wurde für jeden Patienten die mittlere Länge der Schübe in den letzten zwei Jahren vor Therapie bzw. Studienbeginn ermittelt (=Länge[2 Jahren]) und die mittlere Länge der Schübe im aktuellen Beobachtungs-/Behandlungszeitraum bestimmt (=Länge[aktuell]). Somit ergab sich ein Responder oder Nonresponder hinsichtlich der Schubdauer wenn:

Responder [Schubdauer]: Schübe x Länge[aktuell] < Referenz x Länge[2 Jahren]

Nonresponder [Schubdauer]: Schübe x Länge[aktuell] \geq Referenz x Länge[2 Jahren]

Die Responderrate der Schubdauer zeigte in dieser Studie ebenfalls einen signifikanten Unterschied zwischen den 51% vermeintlichen Respondern in der untherapierten Gruppe und den 70,4% Rebif- beziehungsweise 77,8% Betaferonrespondern.

Deutliche Unterschiede in der Schubanalyse zwischen beiden Therapiegruppen waren demnach nicht zu verzeichnen, aber der positive Effekt einer Interferon-beta Therapie spiegelte sich auch hier, wie in anderen großen Studien, wieder. Es wird von einer jährlichen Reduktion der Schübe von 30 - 37% berichtet.^{68,164,175}

In den meisten Studien, sowohl unter Betaferon als auch unter Rebif, wird zusätzlich von einem deutlichen Dosis-Wirkungs-Effekt der Medikamente berichtet. Eine Phase III Studie der IFNB Multiple Sclerosis Study Group zeigte einen noch deutlicheren Rückgang der Schübe unter 8MIU Betaferon gegenüber 1,6MIU Betaferon.⁶⁶ Die PRISMS Studie zeigte unter Rebiftherapie eine Verzögerung des nächsten Schubes um 8,3 bis 16,9 Monate in Abhängigkeit, ob 44µg oder 22µg dreimal wöchentlich verabreicht wurde. Weiterhin waren nach der vierjährigen Behandlung mit IFN-beta 1a die Anzahl der Schübe pro Patient und Jahr signifikant geringer als bei einer zweijährigen Placebobehandlung mit anschließender zweijähriger Rebiftherapie. Die Schübe pro Patient und Jahr zeigten über den vierjährigen Zeitraum in der 44µg Rebifgruppe eine geringere Anzahl als in der 22µg Rebifgruppe, die aber noch nicht statistisch signifikant war.^{180,179} Weitere Analysen der PRISMS Studie berechneten die im MRT zu sehende Fläche demyelinisierender Plaques (disease burden) und verglichen diese mit drei RRMS Patientengruppen. Eine Gruppe erhielt über zwei Jahre hinweg ein Placebo, die nächste Gruppe 22µg Rebif und die dritte Gruppe 44µg Rebif. Die „disease burden“ im MRT verteilten sich wie folgt: Die Placebogruppe zeigte einen 10,9%igen Anstieg, die Rebifgruppe mit 22µg s.c. eine 1,2%ige Abnahme und die Rebifgruppe mit 44µg s.c. eine 3,8%ige Abnahme der

kontrastanreichernden Herde im MRT. Hiermit wäre ein dosisabhängiger Effekt von Rebif nahezu bewiesen.¹⁷⁹ Da in hiesiger Studie die Dosis von Rebif niedriger als die applizierte Menge von Betaferon ist, kann man nicht sagen, daß Rebif bezüglich der Schubdauer eine schlechtere Wirksamkeit habe.

Weiterhin konnte im Studienverlauf beobachtet werden, daß die Rebif-Gruppe vor Therapiebeginn tendenziell eine höhere Schubdauer zeigte. Dies spricht für eine leicht „kränkere“ bzw. in der Erkrankung weiter fortgeschrittene Multiple Sklerose in der Rebifgruppe. Somit besteht hier eine Strukturungleichheit der Gruppen. Die Aussage eines direkten Vergleiches ist fraglich zu bewerten.

Beide Therapiegruppen zeigten zunächst schlechtere EDSS-Scores als Ausgangswerte vor Therapiebeginn. Davon ausgehend kam es unter Rebif zu einer Verschlechterung des EDSS und unter Betaferon zu einer diskreten Besserung. Statistisch signifikant war hierbei nur der Paarvergleich Rebif zur untherapierten Gruppe und Rebif zur Betaferongruppe. Eine Ursache kann der in vielen Studien beobachtete Dosiseffekt der Interferone auf ihre Wirkung sein, denn der geringere Effekt auf die Krankheitsaktivität bei der niedrigeren Konzentration von 22µg Rebif gegenüber von 44µg Rebif wurde schon in anderen großen Studien beobachtet und kritisiert. Eventuell bringt demnach eine höhere Rebifkonzentration bessere Effekte auf den EDSS.^{66,182} Vielleicht beruht das Ergebnis aber auch auf einem in der Rebifgruppe „kränkeren“ Patientenkollektiv als dem unter Betaferon. Es wurde in Studien gezeigt, daß ein früher Therapiebeginn erheblich positivere Effekte auf den MS-Verlauf bringt.⁴¹ In der Placebo kontrollierten, randomisierten Studie von Comi et al. wurden Patienten, die gerade eine erste Episode eines neurologischen Ereignisses hatten, welches ein Zeichen auf eine spätere MS-Erkrankung sein konnte, in zwei Gruppen geteilt. Die eine Gruppe erhielt ein Placebo und die andere Gruppe Interferon-beta 1a 22µg s.c. einmal wöchentlich über einen Zeitraum von zwei Jahren. Die Zeit, in der 30% der Patienten eine klinisch gesicherte Multiple Sklerose entwickelten, lag in der Interferongruppe bei 569 Tagen und in der Placebogruppe bei 252 Tagen. Somit hat ein früher Therapiebeginn der Multiplen Sklerose einen nachweislich positiveren Effekt auf den späteren Krankheitsverlauf.

Bezüglich der Applikationsform (s.c.) und der Applikationsfrequenz beider Medikamente unterscheiden sie sich nicht wesentlich.

Deutliche Unterschiede waren bezüglich der Schubanalyse bei der einjährigen Beobachtung zwischen der mit Rebif und der mit Betaferon therapierten RRMS Patienten nicht zu verzeichnen. Die logistische Regression der Schübe zeigte ein statistisch signifikant erhöhtes Risiko für das Auftreten von Schüben in der „Altersklasse > 30 Jahre“. (p=0,0235; odds ratio 3,664)

Betrachtet man das unterschiedliche Verhalten der Immunparameter zwischen beiden Therapieformen, zeigte lediglich der sIL-4R Auffälligkeiten. Unter Betaferon kam es zu einer statistisch signifikanten Abnahme des sIL-4R im ersten und zweiten Jahr der Therapie, wohingegen die Konzentration des sIL-4R unter Rebif keine Veränderung zeigte. Unter Punkt 4.2.2 wurde schon beschrieben, daß niedrige Konzentrationen des sIL-4R vermutlich die entzündungshemmende schützende Wirkung des IL-4 unterstützen. Dieses Ergebnis darf nicht dazu verleiten, die Aussage zu treffen, daß die beiden Interferone unterschiedliche Wirksamkeiten und/oder Wirkweisen hätten. Denn die Patienten, die mit Rebif therapiert wurden, stellten vor Therapiebeginn das „kränkere“ Patientenkollektiv dar. Wegen der therapeutischen Möglichkeit, die Dosis von Rebif zu erhöhen, wurden vermutlich bevorzugt die „kränkeren“ Patienten auf Rebif eingestellt.

Der EDSS der Rebifgruppe lag, wenn auch nicht statistisch signifikant, in einem höheren Niveau als der EDSS der Betaferongruppe. Dennoch zeigten, wenn auch ebenfalls statistisch nicht signifikant, die Patienten der Rebifgruppe eine Abnahme des sIL-4R beim Vergleich der Werte nach einjähriger Therapie mit den Ausgangswerten (Baselinewert) vor Therapie. Schaut man sich nun noch die Responder- vs. Nonresponderraten unter Therapie an (als Responder wird ein Patient klassifiziert, wenn er unter Therapie einen Rückgang der Schubrate und/oder der Krankheitsprogression (EDSS) hat), wies die untherapierte Gruppe vermeintliche 49% Responder auf, wozu man noch erwähnen sollte, daß 75% dieser Patienten als „Completers“ einen „stabileren“ Krankheitsverlauf hatten. Unter Rebif liegt die Responderrate bei 77,8% und unter Betaferon bei 72,2%.

Selbst die SPMS Patienten unter Betaferon zeigten eine Responderrate von 65,5%, obwohl dieses Patientenkollektiv für die Bestimmung von Respondern weniger gut geeignet war, da laut Definition schon der Krankheitsverlauf dieser Gruppe weniger Schübe aufzeigte.

4.2.6 Bewertung der immunologischen Marker als prognostischen Wert für den Therapieerfolg

Versucht man, immunologische Marker als Aktivitätsmarker der Multiplen Sklerose zu bestimmen, korrelierte in dieser Studie die Zunahme der Behinderung der RRMS Patienten (EDSS) positiv mit dem Anstieg der Parameter sVCAM-1, sTNF-RI und sTNF-RII.

Vermutlich gibt es einen Einfluß des EDSS auf die Expression der Parameter, das würde aber zugleich im Widerspruch mit dem positiven Effekt der Interferontherapie und dem Anstieg des

sVCAM-1 und des sTNF-RII stehen. Somit läßt sich hier keine Aussage über die Prognose der MS-Aktivität an Hand der Parameter ausmachen.

Auch die Schubrate und der Progressionsindex, gebildet aus der Differenz der EDSS-Werte bei Baseline mit dem letzten erhobenen Befund, zeigte keinen Zusammenhang mit den immunologischen Parametern. Ein Problem in dieser Studie war die fehlende Zuordnungsmöglichkeit der alle 3 Monate gemessenen Immunparameter mit den alle drei Monate zum Teil auch retrospektiv erhobenen klinischen Daten. Somit konnten in die Berechnung auch nur die Differenzen der immunologischen Parameter im Vergleich zum Baselinewert mit einfließen. Um die immunologischen Veränderungen bezüglich der Schubrate zu bestimmen, ist es wichtig zu erfahren, wie sich die immunologischen Werte in dieser Studie während eines Schubes und während einer Remission verhalten. Selbst hier müßten die immunologischen Werte vor einem Schub bestimmt werden, da man heute davon ausgeht, daß der schubauslösende immunologische Mechanismus vor der klinischen Ausprägung des Schubes stattfindet.

Parameter, die während der Therapie schon in dem ersten Jahr einen Therapieerfolg in dieser Studie zeigten, sind der Anstieg von sVCAM-1 und sTNF-RII sowie der Abfall von sIL-4R. Der sICAM-1 und der TNF-beta stiegen erst in unserer Beobachtung im zweiten Therapiejahr an. Es wäre aber wesentlich interessanter zu wissen, ob vor Therapiebeginn die Immunparameter oder andere Eigenschaften voraussagen können, ob eine Therapie wirksam sein wird oder nicht. Somit wurden mittels logistischer Regression die Responderraten auf eine Interferontherapie mit folgendem Ergebnis genauer durchleuchtet. Es konnte eine signifikant reduzierte Responderrate auf eine Interferontherapie bei der „Altersklasse > 30 Jahre“ gefunden werden. ($p=0,0011$; odds ratio 0,120) Betrachtet man die Immunparameter bei Baseline in Bezug auf den weiteren Verlauf, ergeben sich für den sIL-4R und den sVCAM-1 interessante Aussagen. Bei einem sIL-4R Wert vor Therapiebeginn (Baselinewert) $sIL-4R \geq 1000$ pg/ml sind die Responderraten signifikant reduziert. ($p=0,0231$; odds ratio 0,333) Auch bei sVCAM-1 Konzentrationen vor Therapiebeginn (Baselinewert) von $sVCAM-1 \geq 1000$ ng/ml sind die Responderraten auffällig reduziert. ($p=0,0895$; odds ratio 0,333) Somit kann unter Umständen der sIL-4R und vielleicht auch der sVCAM-1 vorhersagen, ob eine Interferontherapie wirksam ist. Auffällig ist noch, daß sich gerade die Responder vor Therapiebeginn durch niedrige Proteinlevel des sVCAM-1, des sICAM-1 und des sTNF-RII auszeichnen. Mit einer odds ratio von 2,569 ($p=0,1864$) erhöht dabei Interferon-beta die Responderwahrscheinlichkeit. Um genauere Aussagen hierzu machen zu können, sind sicherlich noch weitere Untersuchungen in Studien mit einem größeren Patientenkollektiv notwendig.

4.3 Ausblick

In dieser Arbeit wurden in einer anwendungsbezogenen Untersuchung mehrere Multiple Sklerose relevante immunologische Parameter bei gesunden Individuen und bei an Multiple Sklerose erkrankten Patienten mit und ohne Therapie unter Verwendung eines rIFN-beta1a und/oder rIFN-beta1b Präparates durchleuchtet. Hierbei ergaben sich alte und neue Einblicke in die immunologische Situation von MS-Patienten. Es wurden interessante Zusammenhänge zwischen den immunologischen Parametern und den Aussichten des weiteren klinischen MS Verlaufes gezeigt. Außerdem konnten Aussagen über die Aussichten einer Therapieresponse an Hand von Immunparametern getroffen werden. Für die immunologische Multiple Sklerose Forschung stellte sich dabei der sIL-4R als besonders interessanter prognostischer Marker heraus. Er lieferte in dieser Studie statistisch signifikante Aussagen über die Response beziehungsweise Nonresponse einer Interferon-beta Therapie. Dennoch darf nicht der Fehler gemacht werden, lediglich an Hand dieses Immunparameters einem Patienten eine Therapie vorzuenthalten, denn es gibt zahlreiche individuelle Einflußfaktoren wie die Ernährung, Sport, Streß und, wie hier gezeigt, selbst die Dauer der Erkrankung ist ein solcher Einflussfaktor, der ebenfalls die sehr individuelle Immunparameterkonstellation mitbestimmt. Vielmehr erhofft man sich in Zukunft durch die Immunparameterkonstellation, daß die individuelle Wahl des geeigneten Therapeutikums erleichtert wird.

Immunparameter mittels ELISA zu bestimmen ist ein Testverfahren, welches sich wegen seiner Verlässlichkeit und seiner einfachen Durchführung im Labor schon bei vielen Routinediagnostiken etabliert hat. Somit bringt dieses alte Verfahren auch heute noch zahlreiche neue Erkenntnisse, so daß es eventuell später parallel zur klinischen Untersuchung weitere wertvolle Hilfen gibt, die die Therapieentscheidung mitbestimmt.

Weiterhin muß darauf erneut hingewiesen werden, daß die klinischen Parameter EDSS/ Schübe nicht sensitiv genug sind, um komplexe Vorgänge, wie die immunologischen Pathomechanismen, zu vergleichen. Hierzu bietet das MRT als sensitiveres und objektiveres Verfahren sicherlich bessere Möglichkeiten. Solch eine Studie befindet sich in der Neurologischen Klinik der Justus-Liebig-Universität Gießen gerade in Auswertung.

Das Verhältnis des IL-4 zum sIL-4R kann sicherlich zusätzlich interessante Aussagen in weiteren Untersuchungen, zum Beispiel im Zusammenhang mit MRT Befunden, liefern.

5. Zusammenfassung

Die Multiple Sklerose ist eine demyelinisierende Entmarkungskrankheit des zentralen Nervensystems unklarer Ursache, bei der es zu neurologischen Ausfällen der Sensibilität, der Motorik, des Zerebrums und der Sehfunktion kommen kann. Der häufigste Verlauf ist die schubförmig remittierende Multiple Sklerose, die nach ein paar Jahren meist in die sekundär chronische Verlaufsform übergeht. Während Kortikosteroide der schnellen Rückbildung der Symptome im akuten Schub dienen, kann die nachweislich dosisabhängige Dauertherapie mit Interferon-beta erfolgen. Diese Therapie zeigte in mehreren großen Studien einen deutlichen Rückgang der Schubfrequenz, der Schubdauer, der Krankheitsprogression und eine Verminderung der im MRT nachgewiesenen Läsionen des ZNS.

Trotz unklarer Ätiologie geht man heute von einer T-Zell vermittelten Autoimmunerkrankung aus, bei der es nach Aktivierung von T-Zellen in der Peripherie zu einer Penetration der reaktiv auf ZNS-Antigene wirkenden T-Zellen durch die Blut-Hirn-Schranke kommt. Im ZNS angelangt, kommt es nach erneuter Aktivierung zu einer akuten Entzündungsreaktion, die zu einer Demyelinisierung und einer axonalen Schädigung führt. An der Entzündung wesentlich mitbeteiligt sind hierbei der TNF-alpha, das IFN-gamma und die Matrixmetalloproteinasen.

Die in dieser Arbeit mittels ELISA gemessenen Immunparameter wurden bezüglich der Pathogenese der MS gezielt ausgewählt. Gemessen wurden die Adhäsionsmoleküle sICAM-1 und sVCAM-1, die nach der Invasion der T-Zellen ins ZNS von den Endothelzellen abgestoßen werden (shedding) und somit frei im Blut nachzuweisen sind. Weiterhin wurden die sTNF-Rezeptoren (sTNF-RI und sTNF-RII), die die proinflammatorischen und zytotoxischen Effekte des TNF-alpha hemmen können, gemessen. In den Tiermodellen der EAE konnte die Gabe der TNF-Rezeptoren den Ausbruch der Erkrankung verhindern. Das im akuten Schub in höheren Konzentrationen vorkommende TNF-beta, welches die Expression der Adhäsionsmoleküle an den Endothelzellen hochregulieren kann, wurde ebenfalls bestimmt.

Zuletzt wurde der bislang in MS-Studien noch kaum geprüfte sIL-4R gemessen, der in hohen Konzentrationen das IL-4 neutralisieren kann und dadurch die IL-4 gesteuerte Hemmung des IFN-gamma vermindert. Die daraus resultierende erhöhte Konzentration von IFN-gamma kann die Produktion von aktivierten T-Zellen steigern.

In dieser Studie zeigten die MS-Patienten gegenüber dem Gesundenkollektiv erhöhte Werte für sIL-4R und verringerte Werte für sICAM-1, TNF-RI und TNF-RII. Bei den MS-Patienten mit schubförmig remittierendem Verlauf zeigte sich unter einjähriger Interferontherapie eine Zunahme von sVCAM-1 und TNF-RII sowie unter Betaferon zusätzlich eine Abnahme von sIL-4R. Unter der zweijährigen Behandlung mit Betaferon setzte sich der Trend des sVCAM-1 und

des TNF-RII fort, und es kam weiterhin zu einer Zunahme des sICAM-1. Auch im zweiten Jahr der Behandlung nahm die Konzentration des sIL-4R weiterhin ab. In beiden Therapiegruppen (Betaferon und Rebif) kam es im Verlauf unter Therapie zu einem Rückgang der Schubfrequenz und der Schubdauer. Ein Unterschied zwischen der Wirksamkeit der Interferone konnte, nicht zuletzt wegen der unterschiedlichen Konzentrationen der Medikamente, in dieser Studie nicht gesehen werden.

Eine starke Zunahme von sICAM-1 und sVCAM-1 unter Interferon zeigte eine Reduktion der Schübe. Weiterhin war das Auftreten von Schüben bei Konzentrationen des sIL-4R $\geq 1000\text{pg/ml}$, kurz vor Therapiebeginn (V0), signifikant erhöht.

In dieser Studie konnten scheinbar zwei Immunparameter gefunden werden, die vor Therapiebeginn einen Hinweis auf die individuelle Wirksamkeit des Interferons geben. Es konnten signifikant reduzierte Responderraten gegenüber IFN-beta bei sIL-4R Konzentrationen an V0 (Wert kurz vor Therapiebeginn) von $\geq 1000\text{ pg/ml}$ und bei sVCAM-1 an V0 von $\geq 1000\text{ ng/ml}$ gefunden werden. Ebenfalls waren die Responderraten für eine IFN-beta Therapie bei Patienten, die vor Therapiebeginn älter als 30 Jahre alt waren, deutlich herabgesetzt.

5. Summary

Multiple sclerosis is a demyelinating disease of the central nervous system of unknown cause. It may lead to a loss of sensitivity, motoric function, visual function and function of the cerebrum. The most frequent type of multiple sclerosis is the relapsing remitting multiple sclerosis. After years, this type mostly turns into the secondary progressive type of multiple sclerosis. While corticosteroids lead to a fast remission of symptoms of an acute exacerbation, Interferon-beta is useful as a permanent drug for a dose dependent therapy. Many multicenter studies show that the frequency and the duration of relapses as well as the disease progression were significantly reduced under the therapy of Interferon-beta. Furthermore, MRI-scans show a reduction of white matter lesions in the central nervous system.

Even though the etiology of multiple sclerosis is unclear most scientists assume a T-cell mediated autoimmune disease. After activation of T-cells in the periphery, the T-cells penetrate through the blood-brain-barrier and have an effect on antigens of the central nervous system. After a second activation in the central nervous system, the T-cells cause an acute inflammation reaction which leads to demyelination and to axonal damage. TNF-alpha, IFN-gamma and the matrixmetalloproteinase are beside others, important parts within the inflammation reaction.

The immune parameters of this treatise measured by ELISA were specifically selected for the pathogenesis of multiple sclerosis. sICAM-1 and sVCAM-1, which were shed from the endothelial cells after the penetration of T-cells in the central nervous system, were measured as free circulating cytokines in the blood. Furthermore, sTNF-RI and sTNF-RII were measured as an inhibitor of the proinflammatory and cytotoxic effects of TNF-alpha. The application of TNF-receptors to animals in EAE models prevented the exacerbation of the disease. TNF-beta, which was found in high concentrations during an acute exacerbation and which is known to increase the expression of the adhesion molecules on endothelial cells, was also measured.

Lastly the sIL-4R, which so far was barely tested in multiple sclerosis studies, was measured. In high concentrations, it can neutralize IL-4, and can thereby reduce the inhibiting effect of IL-4 on IFN-gamma. This mechanism results in a higher concentration of IFN-gamma and therefore increases the production of activated T-cells.

In this study the multiple sclerosis patients showed compared to the healthy group an increased concentration of sIL-4R and a lower concentration of sICAM-1, TNF-RI and TNF-RII. After one year of Interferon-beta therapy, the relapsing remitting multiple sclerosis patients presented an increase of sVCAM-1 and sTNF-RII, and under the therapy of Betaferon therapy they additionally presented a decrease of sIL-4R. After two years of therapy with Betaferon the increase of sVCAM-1 and sTNF-RII continued and furthermore a rise in sICAM-1 was noticed.

The concentration of sIL-4R continued to decrease also in the second year. During the therapy, both groups (Rebif and Betaferon) presented a reduction of the frequency and the duration of relapses. No difference was observed in this study between the effectiveness of Betaferon or Rebif, one reason might be the different concentration of drugs.

A strong increase in concentration of sICAM-1 and sVCAM-1 under the therapy of Interferon-beta resulted in a reduction of relapses. Furthermore, there was a significant increase in relapses if the patient concentration of sIL-4R just before the beginning of interferon therapy was higher or equal than 1000pg/ml.

It appears that this study revealed two immune parameters, that predict the individual effectiveness of the Interferon-beta before starting a therapy.

There were significantly reduced responder rates for interferon-beta when $sIL-4R_{(V0)}$ ($V0$ = just before the beginning of the therapy) was greater or equal than 1000pg/ml and when $sVCAM-1_{(V0)}$ was greater or equal than 1000ng/ml.

Patients who were older than 30 years before the beginning of the therapy had a reduced responder rate for an Interferon-beta therapy.

6. Literaturverzeichnis

- 1 Hein T. and Hopfenmuller W. (2000) Projection of the number of multiple sclerosis patients in Germany. *Nervenarzt* 71, 288-294.
- 2 Kurtzke J.F. (1991) Multiple sclerosis: changing times. *Neuroepidemiology* 10, 1-8.
- 3 Noseworthy J.H., Lucchinetti C., Rodriguez M., and Weinshenker B.G. (2000) Multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 343, 938-952.
- 4 Poeck K., Hacke N. (2001) Neurologie. *Springer*. 11. Auflage
- 5 Compston A. and Coles A. (2002) Multiple sclerosis. *Lancet* 359, 1221-1231.
- 6 Kurtzke J.F. and Hyllested K. (1987) Multiple sclerosis in the Faroe Islands. III. An alternative assessment of the three epidemics. *Acta Neurol. Scand.* 76, 317-339.
- 7 Adams R. D., Victor M., Rapper A. H. deutsche Ausgabe von Hartung H. P., Poewe W., Reichmann H. (1999) Prinzipien der Neurologie. *Mc Graw Hill*. 6. Auflage
- 8 Alter M., Leibowitz U., and Speer J. (1966) Risk of multiple sclerosis related to age at immigration to Israel. *Arch. Neurol.* 15, 234-237.
- 9 Dean G. (1967) Annual incidence, prevalence, and mortality of multiple sclerosis in white South-African-born and in white immigrants to South Africa. *Br. Med. J.* 2, 724-730.
- 10 Elian M., Nightingale S., and Dean G. (1990) Multiple sclerosis among United Kingdom-born children of immigrants from the Indian subcontinent, Africa and the West Indies. *J Neurol. Neurosurg Psychiatry* 53, 906-911.
- 11 Sadovnick A.D., Baird P.A., and Ward R.H. (1988) Multiple sclerosis: updated risks for relatives. *Am. J. Med. Genet.* 29, 533-541.
- 12 Kunze K., (1998) Praxis der Neurologie. *Thieme*. 2. Auflage
- 13 Sadovnick A.D., Armstrong H., Rice G.P., Bulman D., Hashimoto L., Paty D.W., Hashimoto S.A., Warren S., Hader W., Murray T.J., and . (1993) A population-based study of multiple sclerosis in twins: update. *Ann. Neurol.* 33, 281-285.
- 14 Ebers G.C., Sadovnick A.D., and Risch N.J. (1995) A genetic basis for familial aggregation in multiple sclerosis. Canadian Collaborative Study Group. *Nature* 377, 150-151.
- 15 Mumford C.J., Wood N.W., Kellar-Wood H., Thorpe J.W., Miller D.H., and Compston D.A. (1994) The British Isles survey of multiple sclerosis in twins. *Neurology* 44, 11-15.

- 16 Jersild C., Fog T., Hansen G.S., Thomsen M., Svejgaard A., and Dupont B. (1973) Histocompatibility determinants in multiple sclerosis, with special reference to clinical course. *Lancet* 2, 1221-1225.
- 17 Hufschmidt A., Lücking C.H. (1999) Neurologie compact. Leitfaden für Klinik und Praxis. *Thieme*. 2. Auflage
- 18 Bitsch A., Schuchardt J., Bunkowski S., Kuhlmann T., and Bruck W. (2000) Acute axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation. *Brain* 123 (Pt 6), 1174-1183.
- 19 Wolswijk G. (1998) Chronic stage multiple sclerosis lesions contain a relatively quiescent population of oligodendrocyte precursor cells. *J. Neurosci.* 18, 601-609.
- 20 Lucchinetti C., Bruck W., Parisi J., Scheithauer B., Rodriguez M., and Lassmann H. (1999) A quantitative analysis of oligodendrocytes in multiple sclerosis lesions. A study of 113 cases. *Brain* 122 (Pt 12), 2279-2295.
- 21 Schumacher G.A. (1974) Critique of experimental trials of therapy in multiple sclerosis. *Neurology* 24, 1010-1014.
- 22 Kesselring J. (1989) Multiple Sklerose. *Kohlhammer*
- 23 Kanchandani R. and Howe J.G. (1982) Lhermitte's sign in multiple sclerosis: a clinical survey and review of the literature. *J Neurol. Neurosurg Psychiatry* 45, 308-312.
- 24 Rizzo J.F., III and Lessell S. (1988) Risk of developing multiple sclerosis after uncomplicated optic neuritis: a long-term prospective study. *Neurology* 38, 185-190.
- 25 Weinshenker B.G., Bass B., Rice G.P., Noseworthy J., Carriere W., Baskerville J., and Ebers G.C. (1989) The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. 2. Predictive value of the early clinical course. *Brain* 112 (Pt 6), 1419-1428.
- 26 Palace J. (2001) Making the diagnosis of multiple sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 71 Suppl 2, ii3-ii8.
- 27 Wingerchuk D.M., Lucchinetti C.F., and Noseworthy J.H. (2001) Multiple sclerosis: current pathophysiological concepts. *Lab Invest* 81, 263-281.
- 28 Schumacher G.A. (1966) Multiple sclerosis. *Arch. Neurol.* 14, 571-573.
- 29 Kurtzke J.F. (1983) Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 33, 1444-1452.
- 30 Ebers G.C. (2001) Natural history of multiple sclerosis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 71 Suppl 2, ii16-ii19.

- 31 Confavreux C., Hutchinson M., Hours M.M., Cortinovis-Tourniaire P., and Moreau T. (1998) Rate of pregnancy-related relapse in multiple sclerosis. Pregnancy in Multiple Sclerosis Group. *N. Engl. J. Med.* 339, 285-291.
- 32 Gronseth G.S. and Ashman E.J. (2000) Practice parameter: the usefulness of evoked potentials in identifying clinically silent lesions in patients with suspected multiple sclerosis (an evidence-based review): Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 54, 1720-1725.
- 33 Lunding J., Midgard R., and Vedeler C.A. (2000) Oligoclonal bands in cerebrospinal fluid: a comparative study of isoelectric focusing, agarose gel electrophoresis and IgG index. *Acta Neurol. Scand.* 102, 322-325.
- 34 Davies G., Keir G., Thompson E.J., and Giovannoni G. (2003) The clinical significance of an intrathecal monoclonal immunoglobulin band: a follow-up study. *Neurology* 60, 1163-1166.
- 35 Cole S.R., Beck R.W., Moke P.S., Kaufman D.I., and Tourtellotte W.W. (1998) The predictive value of CSF oligoclonal banding for MS 5 years after optic neuritis. Optic Neuritis Study Group. *Neurology* 51, 885-887.
- 36 Ormerod I.E., Miller D.H., McDonald W.I., du Boulay E.P., Rudge P., Kendall B.E., Moseley I.F., Johnson G., Tofts P.S., Halliday A.M., and . (1987) The role of NMR imaging in the assessment of multiple sclerosis and isolated neurological lesions. A quantitative study. *Brain* 110 (Pt 6), 1579-1616.
- 37 Yetkin F.Z., Houghton V.M., Papke R.A., Fischer M.E., and Rao S.M. (1991) Multiple sclerosis: specificity of MR for diagnosis. *Radiology* 178, 447-451.
- 38 Miller D.H., Grossman R.I., Reingold S.C., and McFarland H.F. (1998) The role of magnetic resonance techniques in understanding and managing multiple sclerosis. *Brain* 121 (Pt 1), 3-24.
- 39 Poser C.M., Paty D.W., Scheinberg L., McDonald W.I., Davis F.A., Ebers G.C., Johnson K.P., Sibley W.A., Silberberg D.H., and Tourtellotte W.W. (1983) New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann. Neurol.* 13, 227-231.
- 40 Poser C.M. and Brinar V.V. (2001) Diagnostic criteria for multiple sclerosis. *Clin. Neurol. Neurosurg* 103, 1-11.
- 41 Comi G., Filippi M., Barkhof F., Durelli L., Edan G., Fernandez O., Hartung H., Seeltrayers P., Sorensen P.S., Rovaris M., Martinelli V., and Hommes O.R. (2001) Effect of early interferon treatment on conversion to definite multiple sclerosis: a randomised study. *Lancet* 357, 1576-1582.
- 42 De Stefano N., Narayanan S., Francis G.S., Arnaoutelis R., Tartaglia M.C., Antel J.P., Matthews P.M., and Arnold D.L. (2001) Evidence of axonal damage in the early stages of multiple sclerosis and its relevance to disability. *Arch. Neurol.* 58, 65-70.
- 43 McDonald W.I., Compston A., Edan G., Goodkin D., Hartung H.P., Lublin F.D., McFarland H.F., Paty D.W., Polman C.H., Reingold S.C., Sandberg-Wollheim M., Sibley W., Thompson A., van den N.S., Weinshenker B.Y., and Wolinsky J.S. (2001) Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 50, 121-127.

- 44 Halperin J.J. (1998) Nervous system Lyme disease. *J. Neurol. Sci.* 153, 182-191.
- 45 Murthy J.M., Yangala R., Meena A.K., and Reddy J.J. (1999) Clinical, electrophysiological and magnetic resonance imaging study of acute disseminated encephalomyelitis. *J Assoc. Physicians India* 47, 280-283.
- 46 Mendez M.F. and Pogacar S. (1988) Malignant monophasic multiple sclerosis or "Marburg's disease". *Neurology* 38, 1153-1155.
- 47 Wingerchuk D.M., Hogancamp W.F., O'Brien P.C., and Weinshenker B.G. (1999) The clinical course of neuromyelitis optica (Devic's syndrome). *Neurology* 53, 1107-1114.
- 48 Stenager E. (1990) Infantile MS and Schilder disease. *Pediatr. Neurol.* 6, 283.
- 49 Caracciolo J.T., Murtagh R.D., Rojiani A.M., and Murtagh F.R. (2001) Pathognomonic MR imaging findings in Balo concentric sclerosis. *AJNR Am. J Neuroradiol.* 22, 292-293.
- 50 Andersson P.B. and Goodkin D.E. (1998) Glucocorticosteroid therapy for multiple sclerosis: a critical review. *J Neurol. Sci.* 160, 16-25.
- 51 Milligan N.M., Newcombe R., and Compston D.A. (1987) A double-blind controlled trial of high dose methylprednisolone in patients with multiple sclerosis: 1. Clinical effects. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 50, 511-516.
- 52 Sellebjerg F., Frederiksen J.L., Nielsen P.M., and Olesen J. (1998) Double-blind, randomized, placebo-controlled study of oral, high-dose methylprednisolone in attacks of MS. *Neurology* 51, 529-534.
- 53 Crockard A.D., Treacy M.T., Droogan A.G., McNeill T.A., and Hawkins S.A. (1995) Transient immunomodulation by intravenous methylprednisolone treatment of multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 1, 20-24.
- 54 Miller D.H., Thompson A.J., Morrissey S.P., MacManus D.G., Moore S.G., Kendall B.E., Moseley I.F., and McDonald W.I. (1992) High dose steroids in acute relapses of multiple sclerosis. *J Neur Neurosurg Psychol.*
- 55 Kapoor R., Miller D.H., Jones S.J., Plant G.T., Brusa A., Gass A., Hawkins C.P., Page R., Wood N.W., Compston D.A., Moseley I.F., and McDonald W.I. (1998) Effects of intravenous methylprednisolone on outcome in MRI-based prognostic subgroups in acute optic neuritis. *Neurology* 50, 230-237.
- 56 Oliveri R.L., Valentino P., Russo C., Sibilio G., Aguglia U., Bono F., Fera F., Gambardella A., Zappia M., Pardatscher K., and Quattrone A. (1998) Randomized trial comparing two different high doses of methylprednisolone in MS: a clinical and MRI study. *Neurology* 50, 1833-1836.
- 57 Goodkin D.E., Kinkel R.P., Weinstock-Guttman B., VanderBrug-Medendorp S., Secic M., Gogol D., Perryman J.E., Uccelli M.M., and Neille L. (1998) A phase II study of i.v. methylprednisolone in secondary-progressive multiple sclerosis. *Neurology* 51, 239-245.

- 58 Gekht B.M., Kuzin M.I., Kolomenskaia E.A., Gnezditskaia E.V., and Zefirova G.S. (1979) [Pathogenetic therapy of nervous system and muscular diseases using large doses of prednisolone on alternate days]. *Zh. Nevropatol. Psikhiatr. Im S. S. Korsakova* 79, 286-290.
- 59 Sabir S. and Werth V.P. (2000) Pulse glucocorticoids. *Dermatol. Clin.* 18, 437-4ix.
- 60 IFNB Multiple Sclerosis Study Group U.o.B.C.M.M.A.G. (1995) Interferon beta-1b in the treatment of multiple sclerosis: final outcome of the randomized controlled trial. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group and The University of British Columbia MS/MRI Analysis Group. *Neurology* 45, 1277-1285.
- 61 Miller D.H., Molyneux P.D., Barker G.J., MacManus D.G., Moseley I.F., and Wagner K. (1999) Effect of interferon-beta1b on magnetic resonance imaging outcomes in secondary progressive multiple sclerosis: results of a European multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. European Study Group on Interferon-beta1b in secondary progressive multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 46, 850-859.
- 62 European Study Group on Interferon beta-1b in Secondary Progressive MS (1998) Placebo-controlled multicentre randomised trial of interferon beta-1b in treatment of secondary progressive multiple sclerosis. European Study Group on interferon beta-1b in secondary progressive MS. *Lancet* 352, 1491-1497.
- 63 MSTKG (1999) [MS Therapy Consensus Group. Immunomodulating staged therapy of multiple sclerosis]. *Nervenarzt* 70, 371-386.
- 64 Trapp B.D., Peterson J., Ransohoff R.M., Rudick R., Mork S., and Bo L. (1998) Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 338, 278-285.
- 65 Jacobs L.D., Beck R.W., Simon J.H., Kinkel R.P., Brownschidle C.M., Murray T.J., Simonian N.A., Slasor P.J., and Sandrock A.W. (2000) Intramuscular interferon beta-1a therapy initiated during a first demyelinating event in multiple sclerosis. CHAMPS Study Group. *N. Engl. J. Med.* 343, 898-904.
- 66 IFNB Multiple Sclerosis Study Group (1993) Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. I. Clinical results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The IFNB Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology* 43, 655-661.
- 67 Paty D.W. and Li D.K. (1993) Interferon beta-1b is effective in relapsing-remitting multiple sclerosis. II. MRI analysis results of a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. UBC MS/MRI Study Group and the IFNB Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology* 43, 662-667.
- 68 Jacobs L.D., Cookfair D.L., Rudick R.A., Herndon R.M., Richert J.R., Salazar A.M., Fischer J.S., Goodkin D.E., Granger C.V., Simon J.H., Alam J.J., Bartoszak D.M., Bourdette D.N., Braiman J., Brownschidle C.M., Coats M.E., Cohan S.L., Dougherty D.S., Kinkel R.P., Mass M.K., Munschauer F.E., III, Priore R.L., Pullicino P.M., Scherokman B.J., Whitham R.H., and . (1996) Intramuscular interferon beta-1a for disease progression in relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Ann. Neurol.* 39, 285-294.

- 69 Rudick R.A., Goodkin D.E., Jacobs L.D., Cookfair D.L., Herndon R.M., Richert J.R., Salazar A.M., Fischer J.S., Granger C.V., Simon J.H., Alam J.J., Simonian N.A., Campion M.K., Bartoszak D.M., Bourdette D.N., Braiman J., Brownschidle C.M., Coats M.E., Cohan S.L., Dougherty D.S., Kinkel R.P., Mass M.K., Munschauer F.E., Priore R.L., Whitham R.H., and . (1997) Impact of interferon beta-1a on neurologic disability in relapsing multiple sclerosis. The Multiple Sclerosis Collaborative Research Group (MSCRG). *Neurology*.
- 70 Walther E.U. and Hohlfeld R. (1999) Multiple sclerosis: side effects of interferon beta therapy and their management. *Neurology* 53, 1622-1627.
- 71 Walther E.U., Dang T., Hartung H.P., and Hohlfeld R. (1997) [Formation of neutralizing antibodies in therapy of multiple sclerosis with interferon beta-1b. Practical procedure in suspected therapeutic failure]. *Nervenarzt* 68, 935-939.
- 72 Kivisakk P., Alm G.V., Fredrikson S., and Link H. (2000) Neutralizing and binding anti-interferon-beta (IFN-beta) antibodies. A comparison between IFN-beta-1a and IFN-beta-1b treatment in multiple sclerosis. *Eur. J Neurol.* 7, 27-34.
- 73 Johnson K.P., Brooks B.R., Cohen J.A., Ford C.C., Goldstein J., Lisak R.P., Myers L.W., Panitch H.S., Rose J.W., Schiffer R.B., Vollmer T., Weiner L.P., and Wolinsky J.S. (1998) Extended use of glatiramer acetate (Copaxone) is well tolerated and maintains its clinical effect on multiple sclerosis relapse rate and degree of disability. Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology* 50, 701-708.
- 74 Johnson K.P., Brooks B.R., Cohen J.A., Ford C.C., Goldstein J., Lisak R.P., Myers L.W., Panitch H.S., Rose J.W., and Schiffer R.B. (1995) Copolymer 1 reduces relapse rate and improves disability in relapsing- remitting multiple sclerosis: results of a phase III multicenter, double-blind placebo-controlled trial. The Copolymer 1 Multiple Sclerosis Study Group. *Neurology* 45, 1268-1276.
- 75 Fazekas F., Deisenhammer F., Strasser-Fuchs S., Nahler G., and Mamoli B. (1997) Randomised placebo-controlled trial of monthly intravenous immunoglobulin therapy in relapsing-remitting multiple sclerosis. Austrian Immunoglobulin in Multiple Sclerosis Study Group. *Lancet* 349, 589-593.
- 76 Yudkin P.L., Ellison G.W., Ghezzi A., Goodkin D.E., Hughes R.A., McPherson K., Mertin J., and Milanese C. (1991) Overview of azathioprine treatment in multiple sclerosis. *Lancet* 338, 1051-1055.
- 77 Brok H.P., Bauer J., Jonker M., Blezer E., Amor S., Bontrop R.E., Laman J.D., and ' t Hart B.A. (2001) Non-human primate models of multiple sclerosis. *Immunol. Rev.* 183, 173-185.
- 78 Zamvil S.S. and Steinman L. (1990) The T lymphocyte in experimental allergic encephalomyelitis. *Annu. Rev. Immunol.* 8, 579-621.
- 79 Hemmer B., Cepok S., Nessler S., and Sommer N. (2002) Pathogenesis of multiple sclerosis: an update on immunology. *Curr. Opin. Neurol.* 15, 227-231.
- 80 Steinman L. (2001) Immunotherapy of multiple sclerosis: the end of the beginning. *Curr. Opin. Immunol.* 13, 597-600.

- 81 Martino G. and Hartung H.P. (1999) Immunopathogenesis of multiple sclerosis: the role of T cells. *Curr. Opin. Neurol.* 12, 309-321.
- 82 Flugel A., Berkowicz T., Ritter T., Labeur M., Jenne D.E., Li Z., Ellwart J.W., Willem M., Lassmann H., and Wekerle H. (2001) Migratory activity and functional changes of green fluorescent effector cells before and during experimental autoimmune encephalomyelitis. *Immunity.* 14, 547-560.
- 83 Brocke S., Hausmann S., Steinman L., and Wucherpfennig K.W. (1998) Microbial peptides and superantigens in the pathogenesis of autoimmune diseases of the central nervous system. *Semin. Immunol.* 10, 57-67.
- 84 Steinman L. and Oldstone M.B. (1997) More mayhem from molecular mimics. *Nat. Med.* 3, 1321-1322.
- 85 Gran B., Hemmer B., Vergelli M., McFarland H.F., and Martin R. (1999) Molecular mimicry and multiple sclerosis: degenerate T-cell recognition and the induction of autoimmunity. *Ann. Neurol.* 45, 559-567.
- 86 Wucherpfennig K.W. and Strominger J.L. (1995) Molecular mimicry in T cell-mediated autoimmunity: viral peptides activate human T cell clones specific for myelin basic protein. *Cell* 80, 695-705.
- 87 Hohlfeld R. (1997) Biotechnological agents for the immunotherapy of multiple sclerosis. Principles, problems and perspectives. *Brain* 120 (Pt 5), 865-916.
- 88 Hohlfeld R. (1999) Immunological basis for the therapy of multiple sclerosis. *Acta Neurol. Belg.* 99, 40-43.
- 89 Racke M.K., Ratts R.B., Arredondo L., Perrin P.J., and Lovett-Racke A. (2000) The role of costimulation in autoimmune demyelination. *J. Neuroimmunol.* 107, 205-215.
- 90 Navikas V. and Link H. (1996) Review: cytokines and the pathogenesis of multiple sclerosis. *J. Neurosci. Res.* 45, 322-333.
- 91 Bitsch A., Kuhlmann T., Da Costa C., Bunkowski S., Polak T., and Bruck W. (2000) Tumour necrosis factor alpha mRNA expression in early multiple sclerosis lesions: correlation with demyelinating activity and oligodendrocyte pathology. *Glia* 29, 366-375.
- 92 Romagnani S. (1997) The Th1/Th2 paradigm. *Immunol. Today* 18, 263-266.
- 93 Cannella B. and Raine C.S. (1995) The adhesion molecule and cytokine profile of multiple sclerosis lesions. *Ann. Neurol.* 37, 424-435.
- 94 Baranzini S.E., Elfstrom C., Chang S.Y., Butunoi C., Murray R., Higuchi R., and Oksenberg J.R. (2000) Transcriptional analysis of multiple sclerosis brain lesions reveals a complex pattern of cytokine expression. *J. Immunol.* 165, 6576-6582.

- 95 Gran B. and Rostami A. (2001) T cells, cytokines, and autoantigens in multiple sclerosis. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 1, 263-270.
- 96 Jurewicz A., Biddison W.E., and Antel J.P. (1998) MHC class I-restricted lysis of human oligodendrocytes by myelin basic protein peptide-specific CD8 T lymphocytes. *J. Immunol.* 160, 3056-3059.
- 97 Medana I., Martinic M.A., Wekerle H., and Neumann H. (2001) Transection of major histocompatibility complex class I-induced neurites by cytotoxic T lymphocytes. *Am. J. Pathol.* 159, 809-815.
- 98 Huseby E.S., Liggitt D., Brabb T., Schnabel B., Ohlen C., and Goverman J. (2001) A pathogenic role for myelin-specific CD8(+) T cells in a model for multiple sclerosis. *J. Exp. Med.* 194, 669-676.
- 99 Genain C.P., Cannella B., Hauser S.L., and Raine C.S. (1999) Identification of autoantibodies associated with myelin damage in multiple sclerosis. *Nat. Med.* 5, 170-175.
- 100 Cross A.H., Trotter J.L., and Lyons J. (2001) B cells and antibodies in CNS demyelinating disease. *J. Neuroimmunol.* 112, 1-14.
- 101 Iglesias A., Bauer J., Litztenburger T., Schubart A., and Linington C. (2001) T- and B-cell responses to myelin oligodendrocyte glycoprotein in experimental autoimmune encephalomyelitis and multiple sclerosis. *Glia* 36, 220-234.
- 102 Galboiz Y., Shapiro S., Lahat N., Rawashdeh H., and Miller A. (2001) Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors as markers of disease subtype and response to interferon-beta therapy in relapsing and secondary-progressive multiple sclerosis patients. *Ann. Neurol.* 50, 443-451.
- 103 Scott G.S. and Hooper D.C. (2001) The role of uric acid in protection against peroxynitrite-mediated pathology. *Med. Hypotheses* 56, 95-100.
- 104 Liedtke W., Cannella B., Mazzaccaro R.J., Clements J.M., Miller K.M., Wucherpfennig K.W., Gearing A.J., and Raine C.S. (1998) Effective treatment of models of multiple sclerosis by matrix metalloproteinase inhibitors. *Ann. Neurol.* 44, 35-46.
- 105 Redford E.J., Kapoor R., and Smith K.J. (1997) Nitric oxide donors reversibly block axonal conduction: demyelinated axons are especially susceptible. *Brain* 120 (Pt 12), 2149-2157.
- 106 Smith K.J., Kapoor R., Hall S.M., and Davies M. (2001) Electrically active axons degenerate when exposed to nitric oxide. *Ann. Neurol.* 49, 470-476.
- 107 Lucchinetti C., Bruck W., Parisi J., Scheithauer B., Rodriguez M., and Lassmann H. (2000) Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann. Neurol.* 47, 707-717.
- 108 Lucchinetti C.F., Bruck W., Rodriguez M., and Lassmann H. (1996) Distinct patterns of multiple sclerosis pathology indicates heterogeneity on pathogenesis. *Brain Pathol.* 6, 259-274.

- 109 Galboiz Y. and Miller A. (2002) Immunological indicators of disease activity and prognosis in multiple sclerosis. *Curr. Opin. Neurol.* 15, 233-237.
- 110 Greenwood J., Wang Y., and Calder V.L. (1995) Lymphocyte adhesion and transendothelial migration in the central nervous system: the role of LFA-1, ICAM-1, VLA-4 and VCAM-1. *off. Immunology* 86, 408-415.
- 111 Hartung H.P., Archelos J.J., Zielasek J., Gold R., Koltzenburg M., Reiners K.H., and Toyka K.V. (1995) Circulating adhesion molecules and inflammatory mediators in demyelination: a review. *Neurology* 45, S22-S32.
- 112 Becker J.C., Dummer R., Hartmann A.A., Burg G., and Schmidt R.E. (1991) Shedding of ICAM-1 from human melanoma cell lines induced by IFN-gamma and tumor necrosis factor-alpha. Functional consequences on cell- mediated cytotoxicity. *J. Immunol.* 147, 4398-4401.
- 113 Cuzner M.L., Gveric D., Strand C., Loughlin A.J., Paemen L., Opdenakker G., and Newcombe J. (1996) The expression of tissue-type plasminogen activator, matrix metalloproteases and endogenous inhibitors in the central nervous system in multiple sclerosis: comparison of stages in lesion evolution. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 55, 1194-1204.
- 114 Gijbels K., Masure S., Carton H., and Opdenakker G. (1992) Gelatinase in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis and other inflammatory neurological disorders. *J. Neuroimmunol.* 41, 29-34.
- 115 Stuve O., Dooley N.P., Uhm J.H., Antel J.P., Francis G.S., Williams G., and Yong V.W. (1996) Interferon beta-1b decreases the migration of T lymphocytes in vitro: effects on matrix metalloproteinase-9. *Ann. Neurol.* 40, 853-863.
- 116 Lee S.J. and Benveniste E.N. (1999) Adhesion molecule expression and regulation on cells of the central nervous system. *J. Neuroimmunol.* 98, 77-88.
- 117 Oppenheimer-Marks N. and Lipsky P.E. (1996) Adhesion molecules as targets for the treatment of autoimmune diseases. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 79, 203-210.
- 118 Archelos J.J. and Hartung H.P. (1997) The role of adhesion molecules in multiple sclerosis: biology, pathogenesis and therapeutic implications. *Mol. Med. Today* 3, 310-321.
- 119 Staunton D.E., Marlin S.D., Stratowa C., Dustin M.L., and Springer T.A. (1988) Primary structure of ICAM-1 demonstrates interaction between members of the immunoglobulin and integrin supergene families. *Cell* 52, 925-933.
- 120 Sobel R.A., Mitchell M.E., and Fondren G. (1990) Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in cellular immune reactions in the human central nervous system. *Am. J. Pathol.* 136, 1309-1316.
- 121 Frohman E.M., Frohman T.C., Dustin M.L., Vayuvegula B., Choi B., Gupta A., van den N.S., and Gupta S. (1989) The induction of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) expression on human fetal astrocytes by interferon-gamma, tumor necrosis factor alpha, lymphotoxin, and interleukin-1: relevance to intracerebral antigen presentation. *J. Neuroimmunol.* 23, 117-124.

- 122 Sharar S.R., Winn R.K., and Harlan J.M. (1995) The adhesion cascade and anti-adhesion therapy: an overview. *Springer Semin. Immunopathol.* 16, 359-378.
- 123 Damle N.K., Klussman K., Linsley P.S., and Aruffo A. (1992) Differential costimulatory effects of adhesion molecules B7, ICAM-1, LFA-3, and VCAM-1 on resting and antigen-primed CD4+ T lymphocytes. *J. Immunol.* 148, 1985-1992.
- 124 Rieckmann P., Michel U., Albrecht M., Bruck W., Wockel L., and Felgenhauer K. (1995) Soluble forms of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) block lymphocyte attachment to cerebral endothelial cells. *J. Neuroimmunol.* 60, 9-15.
- 125 Roep B.O., Heidenthal E., de Vries R.R., Kolb H., and Martin S. (1994) Soluble forms of intercellular adhesion molecule-1 in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 343, 1590-1593.
- 126 Hartung H.P., Michels M., Reiners K., Seeltrayers P., Archelos J.J., and Toyka K.V. (1993) Soluble ICAM-1 serum levels in multiple sclerosis and viral encephalitis. *Neurology* 43, 2331-2335.
- 127 Rieckmann P., Martin S., Weichselbraun I., Albrecht M., Kitze B., Weber T., Tumani H., Brooks A., Luer W., Helwig A., and . (1994) Serial analysis of circulating adhesion molecules and TNF receptor in serum from patients with multiple sclerosis: cICAM-1 is an indicator for relapse. *Neurology* 44, 2367-2372.
- 128 Dore-Duffy P., Newman W., Balabanov R., Lisak R.P., Mainolfi E., Rothlein R., and Peterson M. (1995) Circulating, soluble adhesion proteins in cerebrospinal fluid and serum of patients with multiple sclerosis: correlation with clinical activity. *Ann. Neurol.* 37, 55-62.
- 129 Jander S., Heidenreich F., and Stoll G. (1993) Serum and CSF levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in inflammatory neurologic diseases. *Neurology* 43, 1809-1813.
- 130 Hession C., Tizard R., Vassallo C., Schiffer S.B., Goff D., Moy P., Chi-Rosso G., Lühowskyj S., Lobb R., and Osborn L. (1991) Cloning of an alternate form of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM1). *J. Biol. Chem.* 266, 6682-6685.
- 131 Gearing A.J. and Newman W. (1993) Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol. Today* 14, 506-512.
- 132 Mossner R., Fassbender K., Kuhnen J., Schwartz A., and Hennerici M. (1996) Vascular cell adhesion molecule--a new approach to detect endothelial cell activation in MS and encephalitis in vivo. *Acta Neurol. Scand.* 93, 118-122.
- 133 Hartung H.P., Reiners K., Archelos J.J., Michels M., Seeltrayers P., Heidenreich F., Pflughaupt K.W., and Toyka K.V. (1995) Circulating adhesion molecules and tumor necrosis factor receptor in multiple sclerosis: correlation with magnetic resonance imaging. *Ann. Neurol.* 38, 186-193.
- 134 Matsuda M., Tsukada N., Miyagi K., and Yanagisawa N. (1995) Increased levels of soluble vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in the cerebrospinal fluid and sera of patients with multiple sclerosis and human T lymphotropic virus type-1-associated myelopathy. *J. Neuroimmunol.* 59, 35-40.

- 135 Ossege L.M., Sindern E., Patzold T., and Malin J.P. (2001) Immunomodulatory effects of interferon-beta-1b in patients with multiple sclerosis. *Int. Immunopharmacol.* 1, 1085-1100.
- 136 Calabresi P.A., Tranquill L.R., Dambrosia J.M., Stone L.A., Maloni H., Bash C.N., Frank J.A., and McFarland H.F. (1997) Increases in soluble VCAM-1 correlate with a decrease in MRI lesions in multiple sclerosis treated with interferon beta-1b. *Ann. Neurol.* 41, 669-674.
- 137 Matusevicius D., Kivisakk P., Navikas V., V, Tian W., Soderstrom M., Fredrikson S., and Link H. (1998) Influence of IFN-beta1b (Betaferon) on cytokine mRNA profiles in blood mononuclear cells and plasma levels of soluble VCAM-1 in multiple sclerosis. *Eur. J. Neurol.* 5, 265-275.
- 138 Selmaj K., Raine C.S., Cannella B., and Brosnan C.F. (1991) Identification of lymphotoxin and tumor necrosis factor in multiple sclerosis lesions. *J. Clin. Invest* 87, 949-954.
- 139 Paul N.L. and Ruddle N.H. (1988) Lymphotoxin. *Annu. Rev. Immunol.* 6, 407-438.
- 140 Glabinski A., Pokoca L., Tchorzewski H., and Selmaj K. (1991) Lymphotoxin production in multiple sclerosis patients. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)* 39, 285-290.
- 141 Wiendl H., Neuhaus O., Kappos L., and Hohlfeld R. (2000) [Multiple sclerosis. Current review of failed and discontinued clinical trials of drug treatment]. *Nervenarzt* 71, 597-610.
- 142 Vandenabeele P., Declercq W., Vanhaesebroeck B., Grooten J., and Fiers W. (1995) Both TNF receptors are required for TNF-mediated induction of apoptosis in PC60 cells. *J. Immunol.* 154, 2904-2913.
- 143 Probert L., Eugster H.P., Akassoglou K., Bauer J., Frei K., Lassmann H., and Fontana A. (2000) TNFR1 signalling is critical for the development of demyelination and the limitation of T-cell responses during immune-mediated CNS disease. *Brain* 123 (Pt 10), 2005-2019.
- 144 Peschon J.J., Torrance D.S., Stocking K.L., Glaccum M.B., Otten C., Willis C.R., Charrier K., Morrissey P.J., Ware C.B., and Mohler K.M. (1998) TNF receptor-deficient mice reveal divergent roles for p55 and p75 in several models of inflammation. *J. Immunol.* 160, 943-952.
- 145 Black R.A., Rauch C.T., Kozlosky C.J., Peschon J.J., Slack J.L., Wolfson M.F., Castner B.J., Stocking K.L., Reddy P., Srinivasan S., Nelson N., Boiani N., Schooley K.A., Gerhart M., Davis R., Fitzner J.N., Johnson R.S., Paxton R.J., March C.J., and Cerretti D.P. (1997) A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor- alpha from cells. *Nature* 385, 729-733.
- 146 Klinkert W.E., Kojima K., Lesslauer W., Rinner W., Lassmann H., and Wekerle H. (1997) TNF-alpha receptor fusion protein prevents experimental auto-immune encephalomyelitis and demyelination in Lewis rats: an overview. *J. Neuroimmunol.* 72, 163-168.
- 147 Korner H., Lemckert F.A., Chaudhri G., Etteldorf S., and Sedgwick J.D. (1997) Tumor necrosis factor blockade in actively induced experimental autoimmune encephalomyelitis prevents clinical disease despite activated T cell infiltration to the central nervous system. *Eur. J. Immunol.* 27, 1973-1981.

- 148 Beck J., Rondot P., Catinot L., Falcoff E., Kirchner H., and Wietzerbin J. (1988) Increased production of interferon gamma and tumor necrosis factor precedes clinical manifestation in multiple sclerosis: do cytokines trigger off exacerbations? *Acta Neurol. Scand.* 78, 318-323.
- 149 Sharief M.K. and Hentges R. (1991) Association between tumor necrosis factor-alpha and disease progression in patients with multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 325, 467-472.
- 150 Chofflon M., Juillard C., Juillard P., Gauthier G., and Grau G.E. (1992) Tumor necrosis factor alpha production as a possible predictor of relapse in patients with multiple sclerosis. *Eur. Cytokine Netw.* 3, 523-531.
- 151 Imamura K., Suzumura A., Hayashi F., and Marunouchi T. (1993) Cytokine production by peripheral blood monocytes/macrophages in multiple sclerosis patients. *Acta Neurol. Scand.* 87, 281-285.
- 152 van Oosten B.W., Barkhof F., Scholten P.E., von Blomberg B.M., Ader H.J., and Polman C.H. (1998) Increased production of tumor necrosis factor alpha, and not of interferon gamma, preceding disease activity in patients with multiple sclerosis. *Arch. Neurol.* 55, 793-798.
- 153 Ziaber J., Pasnik J., Baj Z., Pokoca L., Chmielewski H., and Tchorzewski H. (2000) Tumor necrosis factor-alpha binding by peripheral blood lymphocytes and polymorphonuclear neutrophils in patients with multiple sclerosis. *J. Investig. Allergol. Clin. Immunol.* 10, 98-101.
- 154 Perini P., Tiberio M., Sivieri S., Facchinetti A., Biasi G., and Gallo P. (2000) Interleukin-1 receptor antagonist, soluble tumor necrosis factor-alpha receptor type I and II, and soluble E-selectin serum levels in multiple sclerosis patients receiving weekly intramuscular injections of interferon-beta1a. *Eur. Cytokine Netw.* 11, 81-86.
- 155 Gessner A. and Rollinghoff M. (2000) Biologic functions and signaling of the interleukin-4 receptor complexes. *Immunobiology* 201, 285-307.
- 156 Beckmann M.P., Cosman D., Fanslow W., Maliszewski C.R., and Lyman S.D. (1992) The interleukin-4 receptor: structure, function, and signal transduction. *Chem. Immunol.* 51, 107-134.
- 157 Fernandez-Botran R. and Vitetta E.S. (1990) A soluble, high-affinity, interleukin-4-binding protein is present in the biological fluids of mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 87, 4202-4206.
- 158 Ruhl S., Pluznik D.H., and Feldman G.M. (1993) Soluble interleukin-4 receptor production by murine myeloid progenitor cells: induction by interleukin-6 and interferon-gamma. *Cytokine* 5, 144-149.
- 159 Jung T., Schrader N., Hellwig M., Enssle K.H., and Neumann C. (1999) Soluble human interleukin-4 receptor is produced by activated T cells under the control of metalloproteinases. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 119, 23-30.
- 160 Jung T., Wagner K., Neumann C., and Heusser C.H. (1999) Enhancement of human IL-4 activity by soluble IL-4 receptors in vitro. *Eur. J. Immunol.* 29, 864-871.
- 161 Fernandez-Botran R. and Vitetta E.S. (1991) Evidence that natural murine soluble interleukin 4 receptors may act as transport proteins. *J. Exp. Med.* 174, 673-681.

- 162 Fanslow W.C., Clifford K.N., Park L.S., Rubin A.S., Voice R.F., Beckmann M.P., and Widmer M.B. (1991) Regulation of alloreactivity in vivo by IL-4 and the soluble IL-4 receptor. *J. Immunol.* 147, 535-540.
- 163 Janeway C.A., Travers P., Walport M., & Shlomchik M. (2001) *Immunobiology- the immune system in health and disease*, 5th ed. Garland Publishing/ Churchill Livingstone, Edinburgh.
- 164 Calabresi P.A. (2002) Considerations in the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neurology* 58, S10-S22.
- 165 Dhib-Jalbut S. (2002) Mechanisms of action of interferons and glatiramer acetate in multiple sclerosis. *Neurology* 58, S3-S9.
- 166 Panitch H.S., Hirsch R.L., Schindler J., and Johnson K.P. (1987) Treatment of multiple sclerosis with gamma interferon: exacerbations associated with activation of the immune system. *Neurology* 37, 1097-1102.
- 167 Jiang H., Milo R., Swoveland P., Johnson K.P., Panitch H., and Dhib-Jalbut S. (1995) Interferon beta-1b reduces interferon gamma-induced antigen-presenting capacity of human glial and B cells. *J. Neuroimmunol.* 61, 17-25.
- 168 Yong V.W., Chabot S., Stuve O., and Williams G. (1998) Interferon beta in the treatment of multiple sclerosis: mechanisms of action. *Neurology* 51, 682-689.
- 169 Huynh H.K., Oger J., and Dorovini-Zis K. (1995) Interferon-beta downregulates interferon-gamma-induced class II MHC molecule expression and morphological changes in primary cultures of human brain microvessel endothelial cells. *J. Neuroimmunol.* 60, 63-73.
- 170 Waubant E., Goodkin D.E., Gee L., Bacchetti P., Sloan R., Stewart T., Andersson P.B., Stabler G., and Miller K. (1999) Serum MMP-9 and TIMP-1 levels are related to MRI activity in relapsing multiple sclerosis. *Neurology* 53, 1397-1401.
- 171 Leppert D., Waubant E., Burk M.R., Oksenberg J.R., and Hauser S.L. (1996) Interferon beta-1b inhibits gelatinase secretion and in vitro migration of human T cells: a possible mechanism for treatment efficacy in multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 40, 846-852.
- 172 Gilden D.H., Devlin M.E., Burgoon M.P., and Owens G.P. (1996) The search for virus in multiple sclerosis brain. *Mult. Scler.* 2, 179-183.
- 173 Challoner P.B., Smith K.T., Parker J.D., MacLeod D.L., Coulter S.N., Rose T.M., Schultz E.R., Bennett J.L., Garber R.L., Chang M., and . (1995) Plaque-associated expression of human herpesvirus 6 in multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 92, 7440-7444.
- 174 Stone L.A., Frank J.A., Albert P.S., Bash C.N., Calabresi P.A., Maloni H., and McFarland H.F. (1997) Characterization of MRI response to treatment with interferon beta-1b: contrast-enhancing MRI lesion frequency as a primary outcome measure. *Neurology* 49, 862-869.

- 175 Calabresi P.A., Stone L.A., Bash C.N., Frank J.A., and McFarland H.F. (1997) Interferon beta results in immediate reduction of contrast-enhanced MRI lesions in multiple sclerosis patients followed by weekly MRI. *Neurology* 48, 1446-1448.
- 176 Barkhof F., Scheltens P., Frequin S.T., Nauta J.J., Tas M.W., Valk J., and Hommes O.R. (1992) Relapsing-remitting multiple sclerosis: sequential enhanced MR imaging vs clinical findings in determining disease activity. *AJR Am. J. Roentgenol.* 159, 1041-1047.
- 177 Zhao G.J., Koopmans R.A., Li D.K., Bedell L., and Paty D.W. (2000) Effect of interferon beta-1b in MS: assessment of annual accumulation of PD/T2 activity on MRI. UBC MS/MRI Analysis Group and the MS Study Group. *Neurology* 54, 200-206.
- 178 Kappos L. and the European Study Group on Interferonb-1b in Secondary Progressive MS (1998) Placebo-controlled multicentre randomised trial of interferon beta-1b in treatment of secondary progressive multiple sclerosis. European Study Group on interferon beta-1b in secondary progressive MS. *Lancet*.
- 179 PRISMS-Study-Group (1998) Randomised double-blind placebo-controlled study of interferon beta-1a in relapsing/remitting multiple sclerosis. PRISMS (Prevention of Relapses and Disability by Interferon beta-1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis) Study Group. *Lancet* 352, 1498-1504.
- 180 PRISMS-4 (2001) PRISMS-4: Long-term efficacy of interferon-beta-1a in relapsing MS. *Neurology* 56, 1628-1636.
- 181 Li D.K. and Paty D.W. (1999) Magnetic resonance imaging results of the PRISMS trial: a randomized, double-blind, placebo-controlled study of interferon-beta1a in relapsing-remitting multiple sclerosis. Prevention of Relapses and Disability by Interferon-beta1a Subcutaneously in Multiple Sclerosis. *Ann. Neurol.* 46, 197-206.
- 182 Liu C. and Blumhardt L.D. (1999) Randomised, double blind, placebo controlled study of interferon beta- 1a in relapsing-remitting multiple sclerosis analysed by area under disability/time curves. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 67, 451-456.
- 183 Rothuizen L.E., Buclin T., Spertini F., Trinchard I., Munafo A., Buchwalder P.A., Ythier A., and Biollaz J. (1999) Influence of interferon beta-1a dose frequency on PBMC cytokine secretion and biological effect markers. *J Neuroimmunol.* 99, 131-141.
- 184 OWIMS Study (1999) Evidence of interferon beta-1a dose response in relapsing-remitting MS: the OWIMS Study. The Once Weekly Interferon for MS Study Group. *Neurology* 53, 679-686.
- 185 Li D.K., Zhao G.J., and Paty D.W. (2001) Randomized controlled trial of interferon-beta-1a in secondary progressive MS: MRI results. *Neurology* 56, 1505-1513.
- 186 MacLean H.J. and Freedman M.S. (2001) Immunologic therapy for relapsing-remitting multiple sclerosis. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 1, 277-285.
- 187 Tsukada N., Matsuda M., Miyagi K., and Yanagisawa N. (1993) Increased levels of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and tumor necrosis factor receptor in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *Neurology* 43, 2679-2682.

- 188 Flachenecker P., Jung S., Rieckmann P., and Toyka K.V. (2002) sICAM-1 is not a marker for disease activity in the relapse-free interval of multiple sclerosis--a cross-sectional pilot study. *J. Neurol.* 249, 1001-1003.
- 189 Matsuda M., Tsukada N., Miyagi K., and Yanagisawa N. (1994) Increased levels of soluble tumor necrosis factor receptor in patients with multiple sclerosis and HTLV-1-associated myelopathy. *J. Neuroimmunol.* 52, 33-40.
- 190 Patzold T., Sindern E., Ossege-Pohle L., and Malin J.P. (1998) The soluble 60-kDa tumour necrosis factor receptor: no difference found between patients with relapsing-remitting multiple sclerosis and controls: increasing levels are associated with the recovery from Guillain-Barre syndrome. *J. Neurol.* 245, 803-808.
- 191 Jurewicz A.M., Walczak A.K., and Selmaj K.W. (1999) Shedding of TNF receptors in multiple sclerosis patients. *Neurology* 53, 1409-1414.
- 192 Fernandez-Botran R. (2000) Soluble cytokine receptors: novel immunotherapeutic agents. *Expert. Opin. Investig. Drugs* 9, 497-514.
- 193 Gessner A., Schroppel K., Will A., Enssle K.H., Lauffer L., and Rollinghoff M. (1994) Recombinant soluble interleukin-4 (IL-4) receptor acts as an antagonist of IL-4 in murine cutaneous Leishmaniasis. *Infect. Immun.* 62, 4112-4117.
- 194 Renz H. (1999) Soluble interleukin-4 receptor (sIL-4R) in allergic diseases. *Inflamm. Res.* 48, 425-431.
- 195 Chilton P.M. and Fernandez-Botran R. (1997) Regulation of the expression of the soluble and membrane forms of the murine IL-4 receptor. *Cell Immunol.* 180, 104-115.
- 196 Gessner A. and Rollinghoff M. (1994) Soluble IL-4 receptor, potential for therapeutic and prophylactic intervention. *Behring Inst. Mitt.* 35-41.
- 197 Ma Y., Hurst H.E., and Fernandez-Botran R. (1996) Soluble cytokine receptors as carrier proteins: effects of soluble interleukin-4 receptors on the pharmacokinetics of murine interleukin-4. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 279, 340-350.
- 198 Deisenhammer F., Mayringer I., Harvey J., Dilitz E., Gasse T., Stadlbauer D., Reindl M., and Berger T. (2000) A comparative study of the relative bioavailability of different interferon beta preparations. *Neurology* 54, 2055-2060.
- 199 Damle N.K. and Aruffo A. (1991) Vascular cell adhesion molecule 1 induces T-cell antigen receptor- dependent activation of CD4+T lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 88, 6403-6407.
- 200 Gonzalez-Amaro R. and Sanchez-Madrid F. (2002) [Intercellular adhesion molecules and chemotactic factors in the pathogenesis of multiple sclerosis]. *Rev. Neurol.* 35, 985-993.

- 201 Greenwood J., Etienne-Manneville S., Adamson P., and Couraud P.O. (2002) Lymphocyte migration into the central nervous system: implication of ICAM-1 signalling at the blood-brain barrier. *Vascul. Pharmacol.* 38, 315-322.
- 202 Hummel V., Kallmann B.A., Wagner S., Fuller T., Bayas A., Tonn J.C., Benveniste E.N., Toyka K.V., and Rieckmann P. (2001) Production of MMPs in human cerebral endothelial cells and their role in shedding adhesion molecules. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 60, 320-327.
- 203 Trojano M., Defazio G., Avolio C., Paolicelli D., Giuliani F., Giorelli M., and Livrea P. (2000) Effects of rIFN-beta-1b on serum circulating ICAM-1 in relapsing remitting multiple sclerosis and on the membrane-bound ICAM-1 expression on brain microvascular endothelial cells. *J. Neurovirol.* 6 Suppl 2, S47-S51.
- 204 Masinovsky B., Urdal D., and Gallatin W.M. (1990) IL-4 acts synergistically with IL-1 beta to promote lymphocyte adhesion to microvascular endothelium by induction of vascular cell adhesion molecule-1. *J. Immunol.* 145, 2886-2895.
- 205 Akassoglou K., Douni E., Bauer J., Lassmann H., Kollias G., and Probert L. (2003) Exclusive tumor necrosis factor (TNF) signaling by the p75TNF receptor triggers inflammatory ischemia in the CNS of transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 100, 709-714.
- 206 Laske C., Oschmann P., Tofighi J., Kuehne S.B., Diehl H., Bregenzer T., Kraus J., Bauer R., Chatzimanolis N., Kern A., Traupe H., and Kaps M. (2001) Induction of sTNF-R1 and sTNF-R2 by interferon beta-1b in correlation with clinical and MRI activity. *Acta Neurol. Scand.* 103, 105-113.
- 207 Kilinc M., Saatci-Cekirge I., and Karabudak R. (2003) Serial analysis of soluble intercellular adhesion molecule-1 level in relapsing-remitting multiple sclerosis patients during IFN-beta1b treatment. *J. Interferon Cytokine Res.* 23, 127-133.

7. Anhang

Tabellen

Tabelle: 3.1

Homogenitätsprüfung MS Patienten vs. gesunde Vpn. bezüglich epidemiologischer Daten

Parameter		Multiple Sklerose	gesunde Vpn	Homogenität
Anzahl der Patienten / Probanden		96	20	Test / p-Wert
Geschlecht	männlich	19 (19,8%)	5 (25,0%)	X ² -Test/
	weiblich	77 (80,2%)	15 (75,0%)	
Alter (Jahren)	Minimum	16	23	U-Test /
	25%-Quartil	32	27	
	Median	38	32,5	
	75%-Quartil	43,5	43,5	
	Maximum	62	75	
Mittelwert		38,4 9,7	36,1 13,5	t-Test / 0,3704
	< oder = 30	17 (17,7%)	9 (45,0%)	
	31- 40	45 (46,9%)	5 (25,0%)	
	41- 50	24 (25,0%)	3 (15,0%)	
	51- 60	8 (8,3%)	2 (10,0%)	
	61- 70	2 (2,1%)	0	
	> 70	0	1 (5,0%)	

Tabelle: 3.2

Homogenitätsprüfung MS Patienten vs. gesunde Vpn. bezüglich der Laborparameter

Parameter		Multiple Sklerose	gesunde Vpn	Homogenität
Anzahl der Patienten/ Probanden		96	20	Test / p-Wert
sICAM-1 (ng/ml)	Minimum	180.00	504.00	U-Test / <0.0001 t-Test / 0.0200
	Maximum	3780.00	1274.00	
	Median	448.00	736.00	
	Mittelwert	543.98	761.00	
	Standardabw.	400.71	183.49	
	fehlende	5	0	
sVCAM-1 (ng/ml)	Minimum	506.50	636.50	U-Test / 0.8539 t-Test / 0.8083
	Maximum	4064.19	1751.25	
	Median	1026.50	976.88	
	Mittelwert	1121.91	1094.23	
	Standardabw.	485.93	316.57	
	fehlende	5	0	
TNF-beta (pg/ml)	Minimum	0.00	0.00	U-Test / 0.7220 t-Test / 0.3901
	Maximum	483.32	238.83	
	Median	38.03	30.82	
	Mittelwert	88.24	64.07	
	Standardabw.	119.01	82.16	
	fehlende	5	0	
TNF-RI (pg/ml)	Minimum	309.60	832.28	U-Test / 0.0073 t-Test / 0.0700
	Maximum	3372.76	1975.56	
	Median	958.16	1126.52	
	Mittelwert	1012.70	1214.53	
	Standardabw.	465.97	340.41	
	fehlende	5	0	
TNF-RII (pg/ml)	Minimum	1566.40	2572.60	U-Test / 0.1122 t-Test / 0.1489
	Maximum	8050.80	6258.16	
	Median	3430.26	3809.78	
	Mittelwert	3554.10	3967.00	
	Standardabw.	1169.10	1055.80	
	fehlende	5		
sIL4-R (pg/ml)	Minimum	575.44	722.64	U-Test / 0.0043 t-Test / 0.0159
	Maximum	2537.64	1213.08	
	Median	1034.00	903.34	
	Mittelwert	1138.35	940.74	
	Standardabw.	352.77	129.30	
	fehlende	19	0	

Tabelle: 3.3a

Homogenitätsprüfung RRMS Patienten vs. SPMS Patienten bezüglich epidemiologischer und krankheitsspezifischer Daten **Teil I**

Parameter		RR-MS	SP-MS	Homogenität
Anzahl der Patienten		79	17	Test / p-Wert
Geschlecht	männlich	15 (19,0%)	4 (23,5%)	X² -Test / 0,6698
	weiblich	64 (81,0%)	13 (76,5%)	
Alter (Jahren)	Minimum	16	35	U-Test / <0,001
	25%-Quartil	31,0	42,0	
	Median	37,0	46,0	
	75%-Quartil	41,0	56,0	
	Maximum	62	61	
	Mittelwert	36,3	47,9	t-Test / <0,001
	Standadabw.	8,6	9	
	< oder = 30	17 (21,5%)	0	
	31 -40	41 (51,9%)	4 (23,5%)	
	41 -50	18 (22,8%)	6 (35,3%)	
	51 -60	2 (2,5%)	6 (35,3%)	
	61 -70	1 (1,3%)	1 (5,9%)	
> 70	0	0		
Alter bei Erstdiagnose (Jahre)	Minimum	15	19	U-Test / 0,0151
	25%-Quartil	25,0	33,0	
	Median	32,0	38,0	
	75%-Quartil	36,0	43,0	
	Maximum	48	46	
	Mittelwert	30,5	35,9	t-Test / 0,0131
	Standadabw.	7,6	9,4	
	< oder = 30	36 (45,6%)	4 (23,5%)	
	31 -40	37 (46,8%)	5 (29,4%)	
	41 -50	6 (7,6%)	8 (47,1%)	
	51 -60	0	0	
	61 -70	0	0	
> 70	0	0		
Dauer der Erkrankung (Jahren)	Minimum	0	1	U-Test / 0,0022 t-Test / 0,0004
	Maximum	23,6	31	
	Median	4,51	10,09	
	Mittelwert	6,26	12,57	
	Standardabw.	5,79	8,65	
Begleiterkrankungen	nein	69 (87,3%)	16 (94,1%)	X²-Test / 0,4262
	ja	10 (12,7%)	1 (5,9%)	
FALLS JA: individuelle Anzahl der Diagnosen	1 2	8 2	1 0	
Diagnosen (mit Mehrfachnennungen)				
Depression		4	0	
Asthma bronchiale		1	0	
Keratokonjunktivitis sicca		1	0	
V. a. Sjögren- Syndrom		1	0	
Epilepsie		3	0	
Hüfte-TEP		1	0	
Migräne		1	0	
Colitis ulcerosa		0	1	
Medikation begleitender Erkrankungen				
nein		77 (97,5%)	17 (100,0%)	X²-Test / 0,5073
ja		2 (2,5%)	0	
FALLS JA: individuelle Anzahl der Präparate		1	0	
Präparatenennungen (mit Mehrfachnennungen)				
Cortisol, oral		1	0	
Augentropfen, nicht systemisch		1	0	

Tabelle: 3.3b
Teil II

Parameter		RR-MS	SP-MS	Homogenität
Anzahl der Patienten		79	17	Test / p-Wert
EDSS an Visite 0				
	Minimum	0,0	4,0	U-Test / <0,0001 t-Test / <0,001
	Maximum	7,5	6,5	
	Median	2,00	5,25	
	Mittelwert	2,07	5,19	
	Standardabw.	1,56	0,85	
normal	(0)	7 (9,2%)	0	
minimale Behinderung	(0,5-2,0)	44 (57,9%)	0	
erhöhte Einschränkung der Gehfähigkeit	(2,5-4,0)	19 (25,0%)	3 (18,8%)	
Notwendigkeit einer Gehhilfe	(4,5-6,0)	5 (6,6%)	12 (75,0%)	
Rollstuhl	(>6,0)	1 (1,3%)	1 (6,3%)	
fehlende Angaben		3	1	
Anzahl früherer Schübe (vor > 2 Jahren)				
	Minimum	0	1	U-Test / 0,0009
	Maximum	20	11	
	Median	2,0	4,0	
	Mittelwert	3,0	5,5	
	Standardabw.	3,1	3,2	
	0	12 (15,8%)	0	
	1	13 (17,1%)	1 (5,9%)	
	2	17 (22,4%)	1 (5,9%)	
	3	10 (13,2%)	3 (17,6%)	
	4-5	15 (19,7%)	6 (35,3%)	
	6-10	8 (10,5%)	5 (29,4%)	
	>10	1 (1,3%)	1 (5,9%)	
fehlende Angaben		3	0	
Anzahl der Schübe in den letzten 2 Jahren				
	Minimum	1	1	U-Test / 0,0021
	Maximum	6	3	
	Median	2,0	1,0	
	Mittelwert	2,1	1,4	
	Standardabw.	0,9	0,6	
	1	21 (26,9%)	11 (68,8%)	
	2	36 (46,2%)	4 (25,0%)	
	3	16 (20,5%)	1 (6,3%)	
	>3	5 (6,4%)	0	
fehlende Angaben		1	1	
Maximale Schubdauer in den letzten 2 Jahren (Tage)				
	Minimum	10	20	U-Test / 0,0503
	Maximum	70	40	
	Median	28	30	
	Mittelwert	27,6	31,3	
	Standardabw.	9,2	7	
	< oder = 20	20 (25,6%)	2 (12,5%)	
	21-30	44 (56,4%)	9 (56,3%)	
	31-40	12 (15,4%)	5 (31,3%)	
	>40	2 (2,6%)	0	
fehlende Angaben		1	1	
Kortisontherapie in den letzten 2 Jahren				
	nein	7 (9,1%)	0	
	ja	70 (90,9%)	15 (100,0%)	
fehlende Angaben		2	2	

Tabelle: 3.4

Homogenitätsprüfung der RRMS Patienten vs. SPMS Patienten bezüglich der Laborparameter

Parameter		RR-MS	SP-MS	Homogenität
Anzahl der Patienten		79	17	Test / p-Wert
sICAM-1 (ng/ml)	Minimum	180,00	232,00	U-Test / 0,4913 t-Test / 0,1334
	Maximum	1252,00	3780,00	
	Median	468,00	418,00	
	Mittelwert	514,81	680,75	
	Standardabw.	204,72	855,82	
fehlende Angaben		4	1	
sVCAM-1 (ng/ml)	Minimum	506,50	527,50	U-Test / 0,6204 t-Test / 0,8861
	Maximum	4064,19	1989,25	
	Median	1039,25	1007,63	
	Mittelwert	1118,51	1137,84	
	Standardabw.	503,63	406,35	
fehlende Angaben		4	1	
TNF-beta (pg/ml)	Minimum	0,00	0,00	U-Test / 0,2273 t-Test / 0,5778
	Maximum	483,32	477,27	
	Median	46,92	0,00	
	Mittelwert	85,01	103,39	
	Standardabw.	103,74	177,75	
fehlende Angaben		4	1	
TNF-RI (pg/ml)	Minimum	309,60	404,16	U-Test / 0,9543 t-Test / 0,7837
	Maximum	3372,76	2030,48	
	Median	964,68	918,04	
	Mittelwert	1019,95	983,44	
	Standardabw.	480,10	405,63	
fehlende Angaben		4	1	
TNF-RII (pg/ml)	Minimum	1566,40	2214,28	U-Test / 0,5770 t-Test / 0,8808
	Maximum	8050,80	6913,84	
	Median	3518,16	3293,66	
	Mittelwert	3562,66	3513,96	
	Standardabw.	1158,07	1257,96	
fehlende Angaben		4	1	
sIL-4R (pg/ml)	Minimum	575,44	852,92	U-Test / 0,5179 t-Test / 0,4647
	Maximum	2537,64	1952,20	
	Median	1053,32	1009,54	
	Mittelwert	1153,53	1080,50	
	Standardabw.	370,84	275,57	
fehlende Angaben		18	1	

Tabelle: 3.5a

Homogenitätsprüfung der drei RRMS Gruppen bezüglich epidemiologischer und krankheitsspezifischer Daten
Teil I

Parameter		Untherapiert	Rebif	Betaferon	Homogenität
Anzahl der Patienten		50	27	18	Test / p-Wert
Geschlecht					
	männlich	11 (22,0%)	5 (18,5%)	3 (16,7%)	X ² -Test / 0,8663
	weiblich	39 (78,0%)	22 (81,5%)	15 (83,3%)	
Alter (Jahre)					
	Minimum	16	21	22	KW-Test / 0,4836
	25%-Quartil	31,0	31,0	28,0	
	Median	37,0	36,0	34,5	
	75%-Quartil	41,0	43,0	38,0	
	Maximum	58	62	54	
	Mittelwert	35,8	36,7	34,1	F-Test / 0,5952
	Standardabw.	8,4	8,9	7,9	
	< oder = 30	11 (22,0%)	5 (18,5%)	7 (38,0%)	
	31-40	26 (52,0%)	15 (55,6%)	9 (50,0%)	
	41-50	12 (24,0%)	6 (22,2%)	1 (5,6%)	
	51-60	1 (2,0%)	0	1 (5,6%)	
	61-70	0	1 (3,7%)	0	
	>70	0	0	0	
Alter bei Erstdiagnose (Jahre)					
	Minimum	15	18	17	KW-Test / 0,3222
	25%-Quartil	25,0	25,0	22,0	
	Median	32,0	32,0	28,5	
	75%-Quartil	35,0	36,0	33,0	
	Maximum	48	45	48	
	Mittelwert	30,7	30,6	28,2	F-Test / 0,4273
	Standardabw.	7,5	6,8	7,6	
	< oder = 30	21 (42,0%)	13 (48,1%)	11 (61,1%)	
	31-40	25 (50,0%)	13 (48,1%)	6 (33,3%)	
	41-50	4 (8,0%)	1 (3,7%)	1 (5,6%)	
	51-60	0	0	0	
	61-70	0	0	0	
	>70	0	0	0	
Dauer der Erkrankung Jahre					
	Minimum	0,0	0,9	1,5	KW-Test / 0,1337
	Maximum	20,6	23,6	15,1	
	Median	3,57	5,64	6,24	
	Mittelwert	5,56	6,56	6,34	
	Standardabw.	5,87	5,63	4,29	
Begleiterkrankungen					
	nein	41 (82,0%)	23 (85,2%)	17 (94,4%)	X ² -Test / 0,4423
	ja	9 (18,0%)	4 (14,8%)	1 (5,6%)	
FALLS JA					
individuelle Anzahl der Diagnosen					
	1	7	4	1	
	2	2	0	0	
Diagnosen (mit Mehrfachnennungen)					
	Depression	4	1	0	
	Asthma bronchiale	1	0	0	
	Keratokonjunktivitis sicca	1	0	0	
	V.a. Sjögren-Syndrom	1	0	0	
	Epilepsie	2	1	1	
	Hüfte-TEP	1	1	0	
	Migräne	1	1	0	
Medikation begleitender Erkrankungen					
	nein	48 (96,0%)	27 (100,0%)	18 (100,0%)	X ² -Test / 0,3988
	ja	2 (4,0%)	0	0	
FALLS JA					
individuelle Anzahl der Präparate					
	1	2	0	0	
Präparatenennung (mit Mehrfachnennungen)					
	Cortison, oral	1	0	0	
	Augentropfen, nicht systemisch	1	0	0	

Tabelle: 3.5b
Teil II

Parameter		Untherapiert	Rebif	Betaferon	Homogenität
Anzahl der Patienten		50	27	18	Test / p-Wert
EDSS an Visite 0					
	Minimum	0,0	0,0	0,0	KW-Test / 0,0143 F-Test / 0,0030
	Maximum	4,0	7,5	5,0	
	Median	1,00	2,00	2,50	
	Mittelwert	1,51	2,67	2,32	
	Standardabw.	1,02	2,05	1,27	
normal	(0)	5 (10,2%)	3 (11,5%)	1 (5,9%)	
minimale Behinderung	(0,5-2,0)	37 (75,5%)	11 (42,3%)	7 (41,2%)	
erhöhte Einschränkung der Gehfähigkeit	(2,5-4,0)	7 (14,3%)	7 (26,9%)	8 (47,1%)	
Notwendigkeit einer Gehhilfe	(4,5-6,0)	0	4 (15,4%)	1 (5,9%)	
Rollstuhl	(>6,0)	0	1 (3,8%)	0	
fehlende Angabe		1	1	1	
Anzahl frühere Schübe (vor > 2 Jahren)					
	Minimum	0	0	0	KW-Test / 0,6513
	Maximum	20	10	6	
	Median	2,0	2,0	3,0	
	Mittelwert	2,8	3,1	2,7	
	Standardabw.	3,4	2,7	2,0	
	0	10 (21,3%)	2 (7,4%)	3 (16,7%)	
	1	8 (17,0%)	5 (18,5%)	3 (16,7%)	
	2	10 (21,3%)	9 (33,3%)	2 (11,1%)	
	3	5 (10,6%)	3 (11,1%)	5 (27,8%)	
	4-5	10 (21,3%)	5 (18,5%)	3 (16,7%)	
	6-10	3 (6,4%)	3 (11,1%)	2 (11,1%)	
	>10	1 (2,1%)	0	0	
fehlende Angaben		3	0	0	
Anzahl der Schübe in den letzten 2 Jahren					
	Minimum	1	1	1	KW-Test / <0,0001
	Maximum	4	4	6	
	Median	2,0	2,0	3,0	
	Mittelwert	1,8	2,5	2,8	
	Standardabw.	0,7	0,9	1,2	
	1	18 (36,7%)	3 (11,1%)	2 (11,1%)	
	2	26 (53,1%)	11 (40,7%)	5 (27,8%)	
	3	4 (8,2%)	9 (33,3%)	8 (44,4%)	
	>3	1 (2,0%)	4 (14,8%)	3 (16,7%)	
fehlende Angaben		1	0	0	
Maximale Schubdauer in den letzten 2 Jahren (Tage)					
	Minimum	10	13	20	KW-Test / 0,1318
	Maximum	40	70	40	
	Median	28,0	30,0	26,5	
	Mittelwert	26,2	31,5	26,9	
	Standardabw.	7,5	11,6	6,9	
	< oder = 20	12 (24,5%)	4 (14,8%)	6 (33,3%)	
	21-30	31 (63,3%)	14 (51,9%)	9 (50,0%)	
	31-40	6 (12,2%)	7 (25,9%)	3 (16,7%)	
	>40	0	2 (7,3%)	0	
fehlende Angaben		1	0	0	
Kortisontherapie in den letzten 2 Jahren					
	nein	7 (14,6%)	0	0	X ² -Test / 0,0288
	ja	41 (85,4%)	27 (100,0%)	18 (100,0%)	
fehlende Angaben		2	0	0	

Tabelle: 3.6

Homogenitätsprüfung der drei RRMS Gruppen bezüglich der Laborparameter vor Therapiebeginn (an V0)

Parameter		Untherapiert	Rebif	Betaferon	Homogenität
Anzahl der Patienten		50	27	18	Test / p-Wert
sICAM-1 (ng/ml)	Minimum	180,00	216,00	304,00	KW-Test / 0,6140 F-Test / 0,5220
	Maximum	1252,00	1244,00	948,00	
	Median	432,00	506,00	488,00	
	Mittelwert	490,42	530,11	555,53	
	Standardabw.	207,16	232,88	229,52	
	fehlende Angaben	2	1	1	
sVCAM-1 (ng/ml)	Minimum	585,00	600,25	506,50	KW-Tets / 0,5730 F-Test / 0,4226
	Maximum	211,50	2031,00	4064,19	
	Median	969,75	1016,63	1122,50	
	Mittelwert	1032,77	1134,73	1194,16	
	Standardabw.	351,80	399,17	794,30	
	fehlende Angaben	2	1	1	
TNF-beta (pg/ml)	Minimum	0,00	0,00	0,00	KW-Test / 0,0740 F-Test / 0,0421
	Maximum	483,32	198,62	197,25	
	Median	59,17	37,22	14,21	
	Mittelwert	105,39	63,20	42,50	
	Standardabw.	117,13	73,28	56,43	
	fehlende Angaben	2	1	1	
TNF-RI (pg/ml)	Minimum	309,60	598,72	498,48	KW-Tetst / 0,4721 F-Test / 0,3397
	Maximum	3372,76	2999,40	1907,48	
	Median	965,40	902,38	860,64	
	Mittelwert	954,95	1107,89	957,91	
	Standardabw.	440,16	511,72	322,09	
	fehlende Angaben	2	1	1	
TNF-RII (pg/ml)	Minimum	1695,12	1572,60	1566,40	KW-Test / 0,9049 F-Tetst / 0,7726
	Maximum	6273,40	8050,80	4969,84	
	Median	3512,78	3049,77	3430,26	
	Mittelwert	3405,23	3606,11	3477,02	
	Standardabw.	897,54	1582,66	976,24	
	fehlende Angaben	2	1	1	
sIL4-R (pg/ml)	Minimum	575,44	745,40	730,92	KW-Tetst / 0,0532 F-Tetst / 0,0256
	Maximum	2182,88	2326,04	2537,64	
	Median	1014,38	1035,76	1258,92	
	Mittelwert	1044,74	1222,77	1319,81	
	Standardabw.	260,08	402,40	461,25	
	fehlende Angaben	12	4	4	

Tabelle: 3.7

Spontaner Verlauf der RRMS Patienten bezüglich des EDSS-Scores

untherapierte Patienten (gesamt)							
Stat.Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	49	49	49	37	20	49	49
Minimum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-2,0
Maximum	4,0	4,0	4,5	4,0	4,0	4,5	2,0
Median	1,00	1,50	1,50	1,00	1,00	1,00	0,00
Mittelwert	1,51	1,55	1,56	1,24	1,45	1,49	-0,02
Standardabw.	1,02	0,94	1,07	0,93	1,10	1,09	0,76
EDSS							
0	5 (10,2%)	4 (8,2%)	7 (14,3%)	6 (16,2%)	3 (15,0%)	7 (14,3%)	
0,5-2,0	37 (75,5%)	38 (77,6%)	33 (67,3%)	27 (73,0%)	14 (70%)	33 (67,3%)	
2,5-4,0	7 (14,3%)	7 (14,3%)	8 (16,3%)	4 (10,8%)	3 (15,0%)	8 (16,3%)	
4,5-6,0	0	0	1 (2,0%)	0	0	1 (2,0%)	
Abbrüche ohne Wechsler							
Stat.Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	7	7	7	4	0	7	7
Minimum	1,0	1,0	1,0	1,0		1,0	0,0
Maximum	1,5	2,0	2,5	2,5		2,5	1,5
Median	1,00	1,00	1,00	1,25		1,00	0,00
Mittelwert	1,07	1,29	1,43	1,50		1,43	0,36
Standardabw.	0,19	0,49	0,61	0,71		0,61	0,56
EDSS							
0	0	0	0	0		0	
0,5-2,0	7 (100,0%)	7 (100,0%)	6 (85,7%)	3 (75,0%)		6 (85,7%)	
2,5-4,0	0	0	1 (14,3%)	1 (25,0%)		1 (14,3%)	
4,5-6,0	0	0	0	0		0	
Completers, kein rekombinantes Interferon-beta							
Stat.Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	15	15	15	15	15	15	15
Minimum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-1,5
Maximum	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	1,5
Median	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00
Mittelwert	1,33	1,43	1,30	1,17	1,30	1,30	-0,03
Standardabw.	1,19	1,21	1,05	1,08	1,05	1,05	0,81
EDSS							
0	3 (20,0%)	3 (20,0%)	3 (20,0%)	4 (26,7%)	3 (20,0%)	3 (20,0%)	
0,5-2,0	10 (66,7%)	9 (60,0%)	11 (73,3%)	10 (66,7%)	10 (66,7%)	10 (66,7%)	
2,5-4,0	2 (13,3%)	3 (20,0%)	1 (6,7%)	1 (6,7%)	2 (13,3%)	2 (13,3%)	
4,5-6,0	0	0	0	0	0	0	
Wechsler auf rekombinantes Interferon-beta (inklusive 5 Completers)							
Stat.Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	27	27	27	18	5	27	27
Minimum	0,0	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	-2,0
Maximum	4,0	4,0	4,5	3,5	4,0	4,5	2,0
Median	1,50	1,50	2,00	1,00	1,50	1,00	0,00
Mittelwert	1,72	1,69	1,74	1,25	1,90	1,61	-0,11
Standardabw.	1,02	1,86	1,16	0,86	1,24	1,22	0,78
EDSS							
0	2 (7,4%)	1 (3,7%)	4 (14,8%)	2 (11,1%)	0	4 (14,8%)	
0,5-2,0	20 (74,1%)	22 (81,5%)	16 (59,3%)	14 (77,8%)	4 (80,0%)	17 (63,0%)	
2,5-4,0	5 (18,5%)	4 (14,8%)	6 (22,2%)	2 (11,1%)	1 (20,0%)	5 (18,5%)	
4,5-6,0	0	0	1 (3,7%)	0	0	1 (3,7%)	

Tabelle: 3.8

Spontaner Verlauf der RRMS Patienten bezüglich sICAM-1

sICAM-1 (ng/ml)							
Completers, kein rekombinantes Interferon-beta							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	16	16	16	16	16	16	16
Minimum	312,00	178,00	200,00	234,00	300,00	300,00	-288,00
Maximum	930,32	572,00	862,15	936,00	994,48	994,48	360,00
Median	424,00	403,00	390,00	377,00	397,00	397,00	31,00
Mittelwert	461,27	407,06	440,76	416,43	484,91	484,91	23,64
Standardabw.	152,41	103,78	155,27	165,89	191,32	191,32	160,93
Wechsler auf rekombinantes Interferon-beta (inklusive 5 Completers)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	25	25	25	16	5	25	25
Minimum	180,00	182,00	174,00	252,00	332,00	174,00	-592,00
Maximum	1252,00	980,00	772,00	948,00	702,00	948,00	384,00
Median	432,00	490,00	438,00	493,00	556,00	396,00	-44,00
Mittelwert	508,48	498,08	466,08	517,81	547,60	471,32	-37,16
Standardabw.	247,57	197,34	162,22	191,76	140,10	187,86	187,01
Abbrüche ohne Wechsler							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	7	7	7	4	0	7	7
Minimum	348,00	326,00	310,00	316,00		316,00	-524,00
Maximum	840,00	840,00	620,00	612,00		612,00	124,00
Median	440,00	388,00	402,00	462,00		402,00	-20,00
Mittelwert	492,57	472,29	440,29	463,00		425,71	-66,86
Standardabw.	171,21	185,92	116,68	130,40		106,03	210,09
Untherapierte Patienten (gesamt)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	48	48	48	36	21	48	48
Minimum	180,00	178,00	174,00	234,00	300,00	174,00	-592,00
Maximum	1252,00	980,00	862,15	948,00	994,48	994,48	384,00
Median	432,00	443,00	425,00	391,00	450,00	400,00	-15,00
Mittelwert	490,42	463,98	453,88	466,66	499,83	469,20	-21,23
Standardabw.	207,16	171,66	151,75	177,10	179,24	177,50	181,35

Tabelle: 3.9

Spontaner Verlauf der RRMS Patienten bezüglich sVCAM-1

sVCAM-1 (ng/ml)							
Completers, kein rekombinantes Interferon-beta							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	16	16	16	16	16	16	16
Minimum	585,00	293,75	518,00	616,00	616,25	616,25	-449,50
Maximum	1478,75	1670,00	1586,00	1589,75	1726,50	1726,50	830,50
Median	918,88	814,13	942,50	869,25	821,63	821,63	93,38
Mittelwert	934,31	913,84	972,61	988,66	985,73	985,73	51,42
Standardabw.	266,81	359,56	247,67	322,55	359,71	359,71	314,46
Wechsler auf rekombinantes Interferon-beta (inklusive 5 Completers)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	25	25	25	16	5	25	25
Minimum	641,25	705,75	556,50	489,50	772,75	489,50	-390,00
Maximum	211,50	2227,75	2105,25	1733,25	1129,50	1733,25	314,00
Median	1039,25	976,25	949,50	1036,25	1055,50	1055,50	18,00
Mittelwert	1087,92	1093,78	1023,66	1066,47	1004,80	1069,74	-18,18
Standardabw.	376,61	386,71	366,12	330,64	143,23	326,54	192,58
Abbrüche ohne Wechsler							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	7	7	7	4	0	7	7
Minimum	587,00	568,75	727,50	814,75		814,75	-217,50
Maximum	1894,75	2000,25	2213,25	2105,75		2105,75	227,75
Median	1006,50	1004,25	885,25	1074,13		1038,75	123,75
Mittelwert	1060,82	1105,43	1087,21	1267,19		1150,71	89,89
Standardabw.	429,80	450,66	510,50	605,51		455,53	152,26
Untherapierte Patienten (gesamt)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	48	48	48	36	21	48	48
Minimum	585,00	293,75	518,00	489,50	616,25	489,50	-449,50
Maximum	2111,50	2227,75	2213,25	2105,75	1726,50	2105,75	830,50
Median	969,75	933,38	942,50	966,25	887,25	946,38	47,13
Mittelwert	1032,77	1035,50	1015,91	1054,19	990,27	1053,55	20,78
Standardabw.	351,80	388,71	350,32	360,67	318,15	354,04	235,15

Tabelle: 3.10

Spontaner Verlauf der RRMS Patienten bezüglich TNF-beta

TNF-beta (pg/ml)							
Completers, kein rekombinantes Interferon-beta							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	16	16	16	16	16	16	16
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-47,47
Maximum	319,41	321,39	334,05	314,92	331,86	331,86	105,99
Median	88,18	75,05	83,67	88,25	88,76	88,76	8,03
Mittelwert	116,96	113,21	116,27	124,37	131,43	131,43	14,47
Standardabw.	103,04	101,96	106,97	97,11	108,75	108,75	41,68
Wechsler auf rekombinantes Interferon-beta (inklusive 5 Completers)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	25	25	25	16	5	25	25
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	71,82	0,00	-195,10
Maximum	382,96	392,48	370,49	319,22	187,86	319,22	71,61
Median	46,73	48,12	39,26	68,49	134,54	39,26	0,00
Mittelwert	88,57	87,10	81,32	90,18	133,47	71,35	-17,23
Standardabw.	108,80	108,42	100,02	90,96	41,40	82,43	54,38
Abbrüche ohne Wechsler							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	7	7	7	4	0	7	7
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	-101,50
Maximum	483,32	390,64	390,64	107,38		390,64	42,11
Median	63,54	63,54	67,97	38,45		76,89	0,00
Mittelwert	139,03	127,23	124,29	46,07		118,08	-20,95
Standardabw.	175,30	148,72	147,70	54,63		146,48	54,52
Untherapierte Patienten (gesamt)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	48	48	48	36	21	48	48
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-195,10
Maximum	483,32	392,48	390,64	319,22	331,86	390,64	105,99
Median	59,17	61,17	63,45	78,20	130,36	68,49	0,00
Mittelwert	105,39	101,65	99,24	100,47	131,91	98,19	-7,21
Standardabw.	117,13	111,35	109,13	92,14	95,98	103,93	51,82

Tabelle: 3.11

Spontaner Verlauf der RRMS Patienten bezüglich sTNF-RI

TNF-RI (pg/ml)							
Completers, kein rekombinantes Interferon-beta							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	16	16	16	16	16	16	16
Minimum	488,64	408,72	496,76	465,36	390,68	390,68	-504,28
Maximum	1529,72	1219,40	1857,60	1251,48	1492,44	1492,44	475,00
Median	899,28	770,28	754,00	710,50	583,34	853,34	-100,84
Mittelwert	877,17	795,73	829,76	801,15	816,90	816,90	-60,27
Standardabw.	286,95	259,27	351,54	262,83	297,65	297,65	246,28
Wechsler auf rekombinantes Interferon-beta (inklusive 5 Completers)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	25	25	25	16	5	25	25
Minimum	309,60	382,76	338,88	326,84	572,40	363,20	-286,44
Maximum	1415,40	1415,40	1377,36	1250,76	1207,04	1377,36	491,08
Median	966,12	865,28	837,92	898,24	875,08	910,12	-23,60
Mittelwert	903,59	866,14	865,11	846,39	860,91	910,45	6,87
Standardabw.	249,98	263,21	251,25	283,97	259,10	273,60	213,34
Abbrüche ohne Wechsler							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	7	7	7	4	0	7	7
Minimum	524,52	610,44	704,00	624,72		624,72	-359,28
Maximum	3372,76	3157,96	3087,16	1184,60		3087,16	135,72
Median	1058,08	970,88	865,08	727,42		865,08	-193,00
Mittelwert	1316,21	1268,21	1199,74	816,04		1177,07	-193,14
Standardabw.	939,40	862,43	845,93	256,37		864,87	180,24
Untherapierte Patienten (gesamt)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	48	48	48	36	21	48	48
Minimum	309,60	382,76	338,88	326,84	390,68	363,20	-504,28
Maximum	3372,76	3157,96	3087,16	1251,48	1492,44	3087,16	491,08
Median	965,40	860,94	835,70	827,62	875,08	879,48	-74,62
Mittelwert	954,95	901,31	902,13	822,91	827,38	918,15	-36,80
Standardabw.	440,16	419,86	422,77	256,09	283,27	418,92	222,50

Tabelle: 3.12

Spontaner Verlauf der RRMS Patienten bezüglich sTNF-RII

TNF-RII (pg/ml)							
Completers, kein rekombinantes Interferon-beta							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	16	16	16	16	16	16	16
Minimum	2139,08	2078,96	2230,60	1969,12	1880,95	1880,95	-1971,00
Maximum	4939,20	4631,32	4945,84	4845,24	4934,44	4934,44	750,88
Median	3008,22	2823,94	2896,48	2735,72	2743,90	2743,90	30,32
Mittelwert	3239,77	2985,99	3077,09	2956,59	3023,18	3023,18	-216,59
Standardabw.	833,18	761,47	812,74	878,56	894,86	894,86	724,78
Wechsler auf rekombinantes Interferon-beta (inklusive 5 Completers)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	25	25	25	16	5	25	25
Minimum	1695,12	1721,08	1716,24	1049,12	1966,76	1393,88	-1345,68
Maximum	4797,80	5264,48	6101,96	4622,92	3636,24	6101,96	2446,36
Median	3680,20	3330,32	2859,64	3232,60	2661,84	3333,32	-301,24
Mittelwert	3381,73	3215,14	3220,94	3063,05	2700,58	3325,85	-55,88
Standardabw.	856,67	963,72	1063,29	1093,76	703,88	1100,14	938,39
Abbrüche ohne Wechsler							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	7	7	7	4	0	7	7
Minimum	2621,72	2481,96	2507,00	2400,20		2400,20	-807,00
Maximum	6273,40	6105,88	5938,04	3585,00		5938,04	35,28
Median	3547,28	3410,20	3285,48	2983,78		3124,72	-335,36
Mittelwert	3867,36	3633,93	3555,27	2988,19		3454,93	-412,43
Standardabw.	1146,65	1196,86	1127,17	497,22		1176,10	297,65
Untherapierte Patienten (gesamt)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	48	48	48	36	21	48	48
Minimum	1695,12	1721,08	1716,24	1049,12	1880,95	1393,88	-1971,00
Maximum	6273,40	6105,88	6101,96	4845,24	4934,44	6101,96	2446,36
Median	3512,78	2956,20	3043,26	2905,18	2661,84	3034,32	-206,46
Mittelwert	3405,23	3199,83	3221,75	3007,42	2946,37	3243,78	-161,45
Standardabw.	897,54	941,24	986,92	931,31	848,23	1037,77	803,09

Tabelle: 3.13

Spontaner Verlauf der RRMS Patienten bezüglich sIL-4R

sIL-4R (pg/ml)							
Completers, kein rekombinantes Interferon-beta							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	15	15	15	15	15	15	15
Minimum	839,32	670,36	670,36	751,52	765,48	765,48	-1096,52
Maximum	2182,88	1382,76	1538,96	1217,56	1175,00	1175,00	206,76
Median	968,24	957,92	1034,96	938,48	906,12	906,12	-81,04
Mittelwert	1086,69	1026,97	1012,10	951,57	930,45	930,45	-156,24
Standardabw.	336,02	240,60	212,41	145,22	125,68	125,68	291,36
Wechsler auf rekombinantes Interferon-beta (inklusive 5 Completers)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	18	18	18	11	3	18	18
Minimum	575,44	575,44	654,20	675,20	742,64	675,20	-423,12
Maximum	1489,72	1286,12	1279,36	1400,40	1284,08	1400,40	181,80
Median	1058,38	1023,40	944,48	1008,16	902,72	943,24	-26,50
Mittelwert	1033,39	1000,54	958,53	1026,55	976,48	969,22	-64,16
Standardabw.	210,86	178,21	169,27	214,63	287,15	197,78	143,32
Abbrüche ohne Wechsler							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	5	5	5	2	0	5	5
Minimum	787,00	787,00	861,00	601,04		601,04	-432,96
Maximum	1158,20	1147,84	1215,80	1342,36		1342,36	555,36
Median	1013,96	971,64	941,32	971,70		869,48	55,24
Mittelwert	959,78	946,52	978,95	971,70		977,94	18,15
Standardabw.	159,21	150,78	145,09	524,19		298,69	361,07
Untherapierte Patienten (gesamt)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	38	38	38	28	18	38	38
Minimum	575,44	575,44	654,20	601,04	742,64	601,04	-1096,52
Maximum	2182,88	1382,76	1538,96	1400,40	1284,08	1400,40	555,36
Median	1014,38	993,62	946,32	938,48	904,88	914,74	-53,86
Mittelwert	1044,74	1003,87	982,36	982,46	938,12	955,07	-89,68
Standardabw.	260,08	199,05	182,07	198,76	149,74	184,42	243,59

Tabelle: 3.14

Verlauf der drei RRMS Gruppen bezüglich des EDSS-Scores

Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
untherapierte Patienten							
N	49	49	49	37	20	49	49
Minimum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-2,0
Maximum	4,0	4,0	4,5	4,0	4,0	4,5	2,0
Median	1,00	1,50	1,50	1,00	1,00	1,00	0,00
Mittelwert	1,51	1,55	1,56	1,24	1,45	1,49	-0,02
Standardabw.	1,02	0,94	1,07	0,93	1,10	1,09	0,76
EDSS							
0	5 (10,2%)	4 (8,2%)	7 (14,3%)	6 (16,2%)	3 (15,0%)	7 (14,3%)	
0,5-2,0	37 (75,5%)	38 (77,6%)	33 (67,3%)	27 (73,0%)	14 (70%)	33 (67,3%)	
2,5-4,0	7 (14,3%)	7 (14,3%)	8 (16,3%)	4 (10,8%)	3 (15,0%)	8 (16,3%)	
4,5-6,0	0	0	1 (2,0%)	0	0	1 (2,0%)	
Rebif (inklusive Wechsler)							
N	26	26	26	24	22	26	26
Minimum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-1,0
Maximum	7,5	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	2,0
Median	2,00	1,50	2,00	2,00	2,25	2,25	0,00
Mittelwert	2,67	2,52	2,71	2,81	2,89	2,94	0,27
Standardabw.	2,05	2,14	2,17	2,05	2,01	2,03	0,70
EDSS							
0	3 (11,5%)	4 (15,4%)	3 (11,5%)	2 (8,3%)	1 (4,5%)	1 (3,8%)	
0,5-2,0	11 (42,3%)	10 (38,5%)	11 (42,3%)	11 (45,8%)	10 (45,5%)	12 (46,2%)	
2,5-4,0	7 (26,9%)	7 (26,9%)	7 (26,9%)	6 (25,0%)	8 (36,4%)	9 (34,6%)	
4,5-6,0	4 (15,4%)	3 (11,5%)	2 (7,7%)	2 (8,3%)	0	0	
> 6,5	1 (3,8%)	2 (7,7%)	3 (11,5%)	3 (12,5%)	3 (13,6%)	4 (15,4%)	
Betaferon (inklusive Wechsler)							
N	17	17	17	17	17	17	17
Minimum	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	-1,5
Maximum	5,0	5,0	5,0	5,0	4,5	4,5	3,0
Median	2,50	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	0,00
Mittelwert	2,32	2,50	2,35	2,35	2,21	2,21	-0,12
Standardabw.	1,27	1,20	1,31	1,47	1,47	1,47	1,11
EDSS							
0	1 (5,9%)	0	1 (5,9%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	
0,5-2,0	7 (41,2%)	9 (52,9%)	9 (52,9%)	8 (47,1%)	9 (52,9%)	9 (52,9%)	
2,5-4,0	8 (47,1%)	7 (41,2%)	6 (35,3%)	7 (41,2%)	6 (35,3%)	6 (35,3%)	
4,5-6,0	1 (5,9%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	

Tabelle: 3.16

Verlauf der drei RRMS Gruppen bezüglich sICAM-1

sICAM-1 (ng/ml)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
untherapierte Patienten							
N	48	48	48	36	21	48	48
Minimum	180,00	178,00	174,00	234,00	300,00	174,00	-592,00
Maximum	1252,00	980,00	862,15	948,00	994,48	994,48	384,00
Median	432,00	443,00	425,00	391,00	450,00	400,00	-15,00
Mittelwert	490,42	463,98	453,88	466,66	499,83	469,20	-21,23
Standardabw.	207,16	171,66	151,78	177,10	179,24	177,50	181,35
Rebif (inklusive Wechsler)							
N	26	26	26	24	22	26	26
Minimum	216,00	272,00	292,00	246,00	246,00	246,00	-648,00
Maximum	1244,00	1404,00	1256,00	918,00	966,00	966,00	654,00
Median	506,00	573,70	571,00	565,00	518,00	556,70	43,00
Mittelwert	530,11	605,89	596,31	566,61	556,87	566,87	36,75
Standardabw.	232,88	275,37	233,35	200,96	207,94	203,83	272,48
Betaferon (inklusive Wechsler)							
N	17	17	17	17	17	17	17
Minimum	304,00	318,00	278,00	262,00	258,00	258,00	-294,00
Maximum	948,00	1080,00	1132,00	1192,00	1002,00	1002,00	638,00
Median	488,00	594,00	584,00	526,00	542,00	542,00	14,00
Mittelwert	555,53	621,18	635,06	578,82	602,71	602,71	47,18
Standardabw.	229,52	246,12	265,81	260,14	260,63	260,63	239,33

Tabelle: 3.17

Verlauf der drei RRMS Gruppen bezüglich sVCAM-1

sVCAM-1 (ng/ml)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
untherapierte Patienten							
N	48	48	48	36	21	48	48
Minimum	585,00	293,75	518,00	489,50	616,25	489,50	-449,50
Maximum	2111,50	2227,75	2213,25	2105,75	1726,50	2105,75	830,50
Median	969,75	933,38	942,50	966,25	887,25	946,38	47,13
Mittelwert	1032,77	1035,50	1015,91	1054,19	990,27	1053,55	20,78
Standardabw.	351,80	388,71	350,32	360,67	318,15	354,04	235,15
Rebif (inklusive Wechsler)							
N	26	26	26	24	22	26	26
Minimum	600,25	672,00	559,00	730,50	865,00	755,75	-537,75
Maximum	2031,00	2466,50	2807,50	2394,00	2462,50	2462,50	1366,00
Median	1016,63	1341,25	1193,50	1188,50	1150,25	1173,75	168,50
Mittelwert	1134,73	1408,15	1358,95	1325,00	1294,03	1332,39	197,66
Standardabw.	399,17	484,89	497,99	470,29	443,30	454,61	407,90
Betaferon (inklusive Wechsler)							
N	17	17	17	17	17	17	17
Minimum	506,50	751,00	497,50	570,25	656,25	656,25	-3092,19
Maximum	4064,19	2147,75	2329,75	2046,25	1959,25	1959,25	1180,00
Median	1122,50	1041,25	1261,25	1118,25	1259,50	1259,50	176,25
Mittelwert	1194,16	1136,12	1232,32	1164,07	1237,72	1237,72	43,56
Standardabw.	794,30	367,72	469,25	417,28	415,29	415,29	868,54

Tabelle: 3.18

Verlauf der drei RRMS Gruppen bezüglich sTNF-beta

TNF-beta (pg/ml)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
untherapierte Patienten							
N	48	48	48	36	21	48	48
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-195,10
Maximum	483,32	392,48	390,64	319,22	331,86	390,64	105,99
Median	59,17	61,17	63,45	78,20	130,36	68,49	0,00
Mittelwert	105,39	101,65	99,24	100,47	131,91	98,19	-7,21
Standardabw.	117,13	111,35	109,13	92,14	95,98	103,93	51,82
Rebif (inklusive Wechsler)							
N	26	26	26	24	22	26	26
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-68,47
Maximum	198,62	263,29	223,07	254,93	302,94	302,94	121,40
Median	37,22	33,62	42,36	31,22	42,88	26,28	0,00
Mittelwert	63,20	65,46	63,59	65,15	78,37	71,63	8,43
Standardabw.	73,28	79,29	72,08	77,95	90,18	87,54	33,76
Betaferon (inklusive Wechsler)							
N	17	17	17	17	17	17	17
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-92,52
Maximum	197,25	205,32	205,32	205,32	273,67	273,67	204,23
Median	14,21	23,27	9,03	16,22	8,90	8,90	0,00
Mittelwert	42,50	47,93	44,82	46,82	53,06	53,06	10,56
Standardabw.	56,43	61,82	61,83	60,37	76,26	76,26	57,16

Tabelle: 3.19

Verlauf der drei RRMS Gruppen bezüglich sTNF-RI

TNF-RI (pg/ml)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
untherapierte Patienten							
N	48	48	48	36	21	48	48
Minimum	309,60	382,76	338,88	326,84	390,68	363,20	-504,28
Maximum	3372,76	3157,96	3087,16	1251,48	1492,44	3087,16	491,08
Median	965,40	860,94	835,70	827,62	875,08	879,48	-74,62
Mittelwert	954,95	901,31	902,13	822,91	827,38	918,15	-36,80
Standardabw.	440,16	419,86	422,77	265,09	283,27	418,92	222,50
Rebif (inklusive Wechsler)							
N	26	26	26	24	22	26	26
Minimum	598,72	671,04	487,72	591,08	481,28	481,28	-639,72
Maximum	2999,40	3627,36	3958,68	2041,50	1664,96	3958,68	959,28
Median	902,38	898,30	945,50	1016,74	977,12	946,66	-116,12
Mittelwert	1107,89	1206,14	1108,32	1065,11	990,52	1072,57	-35,31
Standardabw.	511,72	726,22	684,91	373,18	293,04	654,05	348,77
Betaferon (inklusive Wechsler)							
N	17	17	17	17	17	17	17
Minimum	498,48	561,28	555,68	561,28	526,60	526,60	-795,84
Maximum	1907,48	1420,00	1237,80	1198,00	1174,32	1174,32	203,44
Median	860,64	922,72	929,64	880,36	856,48	856,48	-93,68
Mittelwert	957,91	935,02	899,76	863,14	877,27	877,27	-80,64
Standardabw.	322,09	221,21	194,89	161,77	172,69	172,69	229,01

Tabelle: 3.20

Verlauf der drei RRMS Gruppen bezüglich sTNF-RII

TNF-RII (pg/ml)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
untherapierte Patienten							
N	48	48	48	36	21	48	48
Minimum	1695,12	1721,08	1716,24	1049,12	1880,95	1393,88	-1971,00
Maximum	6273,40	6105,88	6101,96	4845,24	4934,44	6101,96	2446,36
Median	3512,78	2956,20	3043,26	2905,18	2661,84	3034,32	-206,46
Mittelwert	3405,23	3199,83	3221,75	3007,42	2946,37	3243,78	-161,45
Standardabw.	897,54	941,24	986,92	931,31	848,23	1037,77	803,09
Rebif (inklusive Wechsler)							
N	26	26	26	24	22	26	26
Minimum	1572,60	2169,48	2250,08	2127,84	2219,52	2127,84	-1787,40
Maximum	8050,80	13550,00	9600,24	9759,30	7336,20	9600,24	3673,76
Median	3049,77	3879,76	4104,04	4141,74	3876,84	3820,66	366,20
Mittelwert	3606,11	4566,22	4251,48	4285,22	3990,57	4036,03	429,91
Standardabw.	1582,66	2423,32	1981,61	1834,33	1284,99	1707,08	1144,85
Betaferon (inklusive Wechsler)							
N	17	17	17	17	17	17	17
Minimum	1566,40	2301,32	2132,56	2259,92	2296,36	2296,36	-798,56
Maximum	4969,84	6398,24	6166,52	5492,08	5629,08	5629,08	2484,24
Median	3430,26	3968,64	4250,24	4250,24	4467,56	4467,56	377,16
Mittelwert	3477,02	4207,85	4089,23	4147,54	4082,56	4082,56	605,54
Standardabw.	976,24	1198,26	1169,01	1143,64	1111,66	1111,66	1061,44

Tabelle: 3.21

Verlauf der drei RRMS Gruppen bezüglich sIL-4R

sIL-4R (pg/ml)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
untherapierte Patienten							
N	38	38	38	28	18	38	38
Minimum	575,44	575,44	654,20	601,04	742,64	601,04	-1096,52
Maximum	2182,88	1382,76	1538,96	1400,40	1284,08	1400,40	555,36
Median	1014,38	993,62	946,32	938,48	904,88	914,74	-53,86
Mittelwert	1044,74	1003,87	982,36	982,46	938,12	955,07	-89,68
Standardabw.	260,08	199,05	182,07	198,76	149,74	184,42	243,59
Rebif (inklusive Wechsler)							
N	23	23	23	21	19	23	23
Minimum	745,40	745,40	674,52	755,52	755,52	755,52	-441,16
Maximum	2326,04	2243,84	1885,56	2156,20	2049,40	2049,40	615,16
Median	1035,76	1091,56	1168,48	1115,56	1192,24	1168,48	-8,68
Mittelwert	1222,77	1231,18	1204,78	1218,31	1253,00	1225,27	2,50
Standardabw.	402,40	404,82	285,79	359,11	343,48	340,87	252,59
Betaferon (inklusive Wechsler)							
N	14	14	14	14	14	14	14
Minimum	730,92	858,76	858,76	809,08	722,36	722,36	-738,96
Maximum	2537,64	2182,24	2182,24	1569,48	2016,36	2016,36	95,60
Median	1258,92	1286,32	1263,96	1072,78	1044,90	1044,90	-149,46
Mittelwert	1319,81	1361,03	1345,55	1114,89	1076,82	1076,82	-242,99
Standardabw.	461,25	409,79	429,59	222,14	308,88	308,88	293,55

Tabelle: 3.22

Vergleich von RRMS Patienten vs. SPMS Patienten unter einjähriger Betaferontherapie bezüglich des EDSS-Score

schubförmig-remittierende MS (RRMS)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	17	17	17	17	17	17	17
Minimum	0,0	0,5	0,0	0,0	0,0	0,0	-1,5
Maximum	5,0	5,0	5,0	5,0	4,5	4,5	3,0
Median	2,50	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	0,00
Mittelwert	2,32	2,50	2,35	2,35	2,21	2,21	-0,12
Standardabw.	1,27	1,20	1,31	1,47	1,47	1,47	1,11
EDSS 0	1 (5,9%)	0	1 (5,9%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	
0,5-2,0	7 (41,2%)	9 (52,9%)	9 (52,9%)	8 (47,1%)	9 (52,9%)	9 (52,9%)	
2,5-4,0	8 (47,1%)	7 (41,2%)	6 (35,3%)	7 (41,2%)	6 (35,3%)	6 (35,3%)	
4,5-6,0	1 (5,9%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	1 (5,9%)	
sekundäre progrediente MS (SPMS)							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	16	16	16	15	13	16	16
Minimum	4	4	2,5	2,5	3,0	3,0	-1,0
Maximum	6,5	6,5	6,5	7,0	6,5	7,0	1,5
Median	5,25	5,25	5,25	5,00	5,00	5,25	0,00
Mittelwert	5,19	5,19	5,16	5,03	5,15	5,28	0,09
Standardabw.	0,85	0,79	1,12	1,27	1,01	1,05	0,76
EDSS 0	0	0	0	0	0	0	
0,5-2,0	0	0	0	0	0	0	
2,5-4,0	3 (18,8%)	2 (12,5%)	3 (18,8%)	3 (20,0%)	2 (15,4%)	2 (12,5%)	
4,5-6,0	12 (75,0%)	13 (81,3%)	10 (62,5%)	9 (60,0%)	9 (69,2%)	11 (68,8%)	
> oder = 6,5	1 (6,3%)	1 (6,3%)	3 (18,8%)	3 (20,0%)	2 (15,4%)	3 (18,8%)	

Tabelle: 3.23

Vergleich von RRMS Patienten vs. SPMS Patienten unter einjähriger Betaferontherapie bezüglich sICAM-1, sVCAM-1 und TNF-beta

sICAM-1 (ng/ml)							
schubförmig- remittierende MS							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	17	17	17	17	17	17	17
Minimum	304,00	318,00	278,00	262,00	258,00	258,00	-294,00
Maximum	948,00	1080,00	1132,00	1192,00	1002,00	1002,00	638,00
Median	488,00	594,00	584,00	526,00	542,00	542,00	14,00
Mittelwert	555,53	621,18	635,06	578,82	602,71	602,71	47,18
Standardabw.	229,52	246,12	265,81	260,14	260,63	260,63	239,33
sekundäre progrediente MS							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	16	16	16	15	13	16	16
Minimum	232,00	258,00	210,00	210,00	190,00	190,00	-2410,00
Maximum	3780,00	1506,00	1232,00	1370,00	1104,00	1370,00	322,00
Median	418,00	532,00	470,00	478,00	442,00	447,00	16,00
Mittelwert	680,75	610,50	595,63	598,40	515,23	576,88	-103,88
Standardabw.	855,82	320,98	335,11	331,06	243,67	312,57	637,22
sVCAM-1 (ng/ml)							
schubförmig- remittierende MS							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	17	17	17	17	17	17	17
Minimum	506,50	751,00	497,50	570,25	656,25	656,25	-3092,19
Maximum	4064,19	2147,75	2329,75	2046,25	1959,25	1959,25	1180,00
Median	1122,50	1041,25	1261,25	1118,25	1259,50	1259,50	176,25
Mittelwert	1194,16	1136,12	1232,32	1164,07	1237,72	1237,72	43,56
Standardabw.	794,30	367,72	469,25	417,28	415,29	415,29	868,54
sekundäre progrediente MS							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	16	16	16	15	13	16	16
Minimum	527,50	897,25	765,25	662,50	870,50	662,50	-504,00
Maximum	1989,25	2523,75	2236,75	1945,00	1860,50	1945,00	604,25
Median	1007,63	1323,75	1162,88	1174,75	1224,25	1158,13	89,13
Mittelwert	1137,84	1429,59	1250,84	1253,10	1220,56	1212,17	74,33
Standardabw.	406,35	436,03	417,08	388,51	277,80	351,33	307,10
TNF-beta (pg/ml)							
schubförmig- remittierende MS							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	17	17	17	17	17	17	17
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-92,52
Maximum	197,25	205,32	205,32	205,32	273,67	273,67	204,23
Median	14,21	23,27	9,03	16,22	8,90	8,90	0,00
Mittelwert	42,50	47,93	44,82	46,82	53,06	53,06	10,56
Standardabw.	56,43	61,82	61,83	60,37	76,26	76,26	57,16
sekundäre progrediente MS							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	16	16	16	15	13	16	16
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-67,37
Maximum	477,27	490,28	467,71	490,76	469,14	469,14	87,58
Median	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mittelwert	103,39	104,17	95,18	104,79	94,98	106,81	3,42
Standardabw.	177,75	186,81	174,31	186,92	168,52	180,58	35,48

Tabelle: 3.24

Vergleich von RRMS Patienten vs. SPMS Patienten unter einjähriger Betaferontherapie bezüglich sTNF-RI, sTNF-RII und sIL-4R

TNF-RI (pg/ml)							
schubförmig- remittierende MS							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	17	17	17	17	17	17	17
Minimum	498,48	561,28	555,68	561,28	526,60	526,60	-795,84
Maximum	1907,48	1420,00	1237,80	1198,00	1174,32	1174,32	203,44
Median	860,64	922,72	929,64	880,36	856,48	856,48	-93,68
Mittelwert	957,91	935,02	899,76	863,14	877,27	877,27	-80,64
Standardabw.	322,09	221,21	194,89	161,77	172,69	172,69	229,01
sekundäre progrediente MS							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	16	16	16	15	13	16	16
Minimum	404,16	439,12	416,20	411,36	270,68	270,68	-501,04
Maximum	2030,48	2604,28	2026,36	2248,36	1359,12	2248,36	336,52
Median	918,04	1010,82	846,22	858,36	856,56	846,70	-43,86
Mittelwert	983,44	1084,15	935,13	944,94	866,94	934,55	-48,88
Standardabw.	405,63	509,30	395,60	467,55	299,04	445,85	192,89
TNF-RII (pg/ml)							
schubförmig- remittierende MS							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	17	17	17	17	17	17	17
Minimum	1566,40	2301,32	2132,56	2259,92	2296,36	2296,36	-798,56
Maximum	4969,84	6398,24	6166,52	5492,08	5629,08	5629,08	2484,24
Median	3430,26	3968,64	4250,24	4250,24	4467,56	4467,56	377,16
Mittelwert	3477,02	4207,85	4089,23	4147,54	4082,56	4082,56	605,54
Standardabw.	976,24	1198,26	1169,01	1143,64	1111,66	1111,66	1061,44
sekundäre progrediente MS							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	16	16	16	15	13	16	16
Minimum	2214,28	2214,28	2771,64	2771,64	3131,68	3076,60	-1878,56
Maximum	6913,84	8069,52	7022,24	9314,96	5103,68	9314,96	2401,12
Median	3293,66	4861,60	4069,58	3831,84	3812,20	3860,60	614,15
Mittelwert	3513,96	4786,54	4308,90	4070,92	3793,44	4109,16	595,20
Standardabw.	1257,96	1326,16	1246,26	1562,56	573,95	1492,66	934,45
sIL-4R (pg/ml)							
schubförmig- remittierende MS							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	14	14	14	14	14	14	14
Minimum	730,92	858,76	858,76	809,08	722,36	722,36	-738,96
Maximum	2537,64	2182,24	2182,24	1569,48	2016,36	2016,36	95,60
Median	1257,92	1286,32	1263,96	1072,78	1044,90	1044,90	-149,46
Mittelwert	1319,81	1361,03	1345,55	1114,89	1076,82	1076,82	-242,99
Standardabw.	461,25	409,79	429,59	222,14	308,88	308,88	293,55
sekundäre progrediente MS							
Stat. Kennzahl	V0	V1	V2	V3	V4	Post	Differenz
N	16	16	16	15	13	16	16
Minimum	852,92	759,32	868,08	665,36	720,72	720,72	-847,44
Maximum	1952,20	1401,40	1313,96	1253,64	1180,00	1180,00	14,28
Median	1009,54	1007,78	968,60	1028,92	927,80	918,80	-63,40
Mittelwert	1080,50	1044,14	1005,30	978,73	950,69	937,82	-142,68
Standardabw.	275,57	150,24	121,43	154,40	136,63	135,97	227,40

Tabelle: 3.25

Verlauf der SPMS Patienten unter zweijähriger Betaferontherapie bezüglich des EDSS-Score

Stat. Kennzahl	V0	V4	V5	V6	V7	V8	Post	Diff. zu V4	Diff. zu Post
SPMS unter Betaferon									
N	13	13	13	12	11	11	13	13	13
Minimum	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-1,5	-1,5
Maximum	5,0	4,5	5,0	5,0	4,5	4,5	5,0	3	3,5
Median	2,50	2,00	2,00	1,75	2,50	2,00	2,50	0	0
Mittelwert	2,31	2,38	2,38	2,13	2,41	2,09	2,42	0,08	0,12
Standardabw.	1,36	1,45	1,47	1,58	1,34	1,55	1,66	1,17	1,39
EDSS									
0	1 (7,7%)	1 (7,7%)	1 (7,7%)	2 (16,7%)	1 (9,1%)	2 (18,2%)	2 (15,4%)		
0,5-2,0	4 (30,8%)	6 (46,2%)	6 (46,2%)	5 (41,7%)	3 (27,3%)	4 (36,4%)	4 (30,8%)		
2,5-4,0	7 (53,8%)	5 (38,5%)	5 (38,5%)	4 (33,3%)	6 (54,5%)	4 (36,4%)	5 (38,5%)		
4,5-6,0	1 (7,7%)	1 (7,7%)	1 (7,7%)	1 (8,3%)	1 (9,1%)	1 (9,1%)	2 (15,4%)		

Tabelle: 3.27

Verlauf der SPMS Patienten unter zweijähriger Betaferontherapie bezüglich der Laborparameter

Stat. Kennzahl	V0	V4	V5	V6	V7	V8	Post	Diff. zu V4	Diff. zu Post
sICAM-1 (ng/ml)									
N	15	15	15	12	11	11	15	15	15
Minimum	304,00	258,00	272,00	208,00	312,00	284,00	284,00	-294,00	-356,00
Maximum	948,00	1002,00	1120,00	1208,00	1280,00	1136,00	1136,00	638,00	804,00
Median	488,00	542,00	484,00	468,00	458,00	710,00	734,00	14,00	188,00
Mittelwert	552,00	606,27	573,60	535,00	545,09	668,55	716,27	54,27	164,27
Standardabw.	235,72	266,17	263,83	296,37	272,28	288,61	281,36	254,56	280,90
sVCAM-1 (ng/ml)									
N	15	15	15	12	11	11	15	15	15
Minimum	506,50	656,25	601,75	523,75	600,25	646,75	646,75	-3092,19	-2820,19
Maximum	4064,19	1959,25	1962,50	1968,00	2093,25	2075,75	2075,75	1180,00	922,50
Median	1122,50	1259,50	871,00	919,88	921,25	1244,00	1128,00	176,25	155,50
Mittelwert	1213,58	1246,93	1071,37	1043,00	1027,66	1284,23	1177,18	33,35	-36,40
Standardabw.	844,59	426,95	446,18	429,17	429,87	427,58	430,23	926,48	859,13
TNF-beta (pg/ml)									
N	15	15	15	12	11	11	15	15	15
Minimum	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-92,52	-60,14
Maximum	197,25	273,67	158,65	125,04	172,36	229,21	229,21	204,23	155,29
Median	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	31,38	31,38	0,00	0,00
Mittelwert	33,56	42,34	36,08	27,12	35,46	62,79	56,25	8,78	22,69
Standardabw.	53,95	74,14	50,81	41,92	57,47	74,61	68,62	60,13	52,36
TNF-RI (pg/ml)									
N	15	15	15	12	11	11	15	15	15
Minimum	498,48	674,24	612,36	525,48	576,68	549,48	549,48	-795,84	-677,60
Maximum	1907,48	1174,32	1176,36	1189,12	1287,64	1396,68	1396,68	203,44	509,72
Median	860,64	856,48	871,84	774,04	889,56	914,00	872,44	-25,88	37,12
Mittelwert	961,02	901,62	839,03	845,21	905,15	967,98	919,42	-59,40	-41,60
Standardabw.	338,28	157,00	192,98	220,02	231,33	272,66	253,34	236,28	335,42
TNR-RII pg/ml									
N	15	15	15	12	11	11	15	15	15
Minimum	1566,40	2743,56	2863,20	2764,24	2748,52	2113,40	2113,40	-798,56	-1316,86
Maximum	4969,84	5629,08	5963,36	5504,44	5638,40	5490,12	5490,12	2484,24	2215,72
Median	3430,26	4783,76	4106,64	3940,76	3980,68	4469,24	4106,64	584,96	385,88
Mittelwert	3528,97	4289,05	4132,64	4130,92	4084,52	4141,80	4055,99	760,08	527,02
Standardabw.	1019,94	1007,95	897,10	977,38	920,88	1144,26	1022,27	1032,35	1089,41
sIL-4R (pg/ml)									
N	12	12	12	10	10	10	12	12	12
Minimum	853,28	722,36	722,36	746,64	725,60	768,84	768,84	-738,96	-1236,84
Maximum	2537,64	2016,36	1758,28	1320,20	1210,16	1300,80	1300,80	84,88	52,56
Median	1295,50	1044,90	963,38	904,58	979,76	881,24	901,50	-232,16	-388,08
Mittelwert	1377,48	1093,24	1032,99	932,22	942,62	920,72	943,51	-284,23	-433,96
Standardabw.	464,02	326,35	272,37	171,63	148,15	152,95	161,73	295,53	389,65

Tabelle: 3.29

Schübe während des Krankheitsverlaufes unter einjähriger Therapie/Beobachtung der drei RRMS Gruppen

Parameter		Untherapiert	Rebif	Betaferon	Vergleich
Anzahl der Patienten		50	27	18	Test / p-Wert
Schub	nein	21 (42,0%)	11 (40,7%)	5 (27,8%)	X ² -Test / 0,5552
	ja	29 (58,0%)	16 (59,3%)	13 (72,2%)	
Anzahl der Schübe	0	21 (42,0%)	11 (40,7%)	5 (27,8%)	KW-Test / 0,5260
	1	16 (32,0%)	14 (51,9%)	9 (50,0%)	
	2	11 (22,0%)	1 (3,7%)	4 (22,2%)	
	3	1 (2,0%)	1 (3,7%)	0	
	4	1 (2,0%)	0	0	
Zeitpunkt des 1. Schubes ab Beginn der Beobachtung Behandlung		(N=29)	(N=16)	(N=13)	KW-Test / 0,2579
(Tage)	Minimum	0	25	17	
	Maximum	415	451	292	
	Median	130,0	199,5	110,0	
	Mittelwert	148,9	200,0	132,2	
	Standardabw.	106,5	120,6	97,9	
Kortisontherapie	nein	31 (62,0%)	19 (70,4%)	9 (50,0%)	X ² -Test / 0,3858
	ja	19 (38,0%)	8 (29,6%)	9 (50,0%)	
Anzahl der Schübe mit Kortisontherapie	0	31 (62,0%)	19 (70,4%)	9 (50,0%)	KW-Test / 0,3641
	1	10 (20,0%)	7 (25,9%)	7 (38,9%)	
	2	8 (16,0%)	1 (3,7%)	2 (11,1%)	
	3	1 (2,0%)	0	0	
	4	0	0	0	

Tabelle: 3.30

Schübe während des Krankheitsverlaufes unter einjähriger Betaferontherapie der RRMS Patienten vs. SPMS Patienten

Parameter		RR-MS	SP-MS	Vergleich
Anzahl der Patienten		18	17	Test / p-Wert
Schub	nein	5 (27,8%)	10 (58,8%)	X ² -Test / 0,0636
	ja	13 (72,2%)	7 (41,2%)	
Anzahl der Schübe	0	5 (27,8%)	10 (58,8%)	KW-Test / 0,0863
	1	9 (50,0%)	5 (29,4%)	
	2	4 (22,2%)	2 (11,8%)	
Zeitpunkt des 1. Schubes ab Beginn der Beobachtung Behandlung		(N=13)	(N=7)	KW-Test / 0,8264
(Tage)	Minimum	17	16	
	Maximum	292	233	
	Median	110,0	126,5	
	Mittelwert	132,2	121,0	
	Standardabw.	97,9	92,3	
fehlende Angaben		0	1	
Kortisontherapie	nein	9 (50,0%)	10 (58,8%)	X ² -Test / 0,6005
	ja	9 (50,0%)	7 (41,2%)	
Anzahl der Schübe mit Kortisontherapie	0	9 (50,0%)	10 (58,8%)	KW-Test / 0,4538
	1	7 (38,9%)	7 (41,2%)	
	2	2 (11,1%)	0	

Tabelle: 3.31

Schübe während der zweijährigen Betaferontherapie der SPMS Patienten

Parameter		1. Jahr	2. Jahr	Gesamt
Anzahl der Patienten		16	16	16
Schub	nein	4 (25,0%)	11 (68,8%)	4 (25,0%)
	ja	12 (75,0%)	5 (31,3%)	12 (75,0%)
Anzahl der Schübe	0	4 (25,0%)	11 (68,8%)	4 (25,0%)
	1	8 (50,0%)	3 (18,8%)	4 (25,0%)
	2	4 (25,0%)	2 (12,5%)	6 (37,5%)
	3	0	0	1 (6,3%)
	4	0	0	1 (6,3%)
Kortisontherapie	nein	8 (50,0%)	12 (75,0%)	7 (43,8%)
	ja	8 (50,0%)	4 (25,0%)	9 (56,3%)
Anzahl der Schübe mit Kortisontherapie	0	8 (50,0%)	12 (75,0%)	7 (43,8%)
	1	6 (37,5%)	3 (18,8%)	4 (25,0%)
	2	2 (12,5%)	1 (6,3%)	4 (25,0%)
	3	0	0	1 (6,3%)
	4	0	0	0
Nur 2-Jahres-Completers		(N=11)	(N=11)	(N=11)
Schub	nein	2 (18,2%)	6 (54,5%)	2 (18,2%)
	ja	9 (81,8%)	5 (45,5%)	9 (81,8%)
Anzahl der Schübe	0	2 (18,2%)	6 (54,5%)	2 (18,2%)
	1	6 (54,5%)	3 (27,3%)	2 (18,2%)
	2	3 (27,3%)	2 (18,2%)	5 (45,5%)
	3	0	0	1 (9,1%)
	4	0	0	1 (9,1%)

Tabelle: 3.37

Logistische Regression bezüglich der Schübe, der Inzidenzen grippaler Symptome und der Responderraten

logistische Regression der Schübe (ja / nein) (N=90)						
Parameter	0	1	p-Wert	odds ratio	95 %-Konfidenzintervall	
					unten	oben
Intercept			0,0859			
Geschlecht	männlich	weiblich	0,9427	0,959	0,302	3,041
Alter bei Erstdiagnose	≤ 30 Jahre	> 30 Jahre	0,0235	3,664	1,192	11,266
Verlaufsform der MS	RRMS	SPMS	0,1361	0,289	0,056	1,479
Anzahl der Schübe in den letzten zwei Jahren	1 Schub	> 1 Schub				
			0,5102	1,444	0,484	4,314
EDSS an Visite 0	≤ 2,0	> 2,0	0,4757	0,637	0,185	2,199
sICAM-1	> 500	≤ 500	0,8706	1,094	0,373	3,210
sVCAM-1	< 1000	≥ 1000	0,7435	1,206	0,393	3,702
TNF-beta	< 40	≥ 40	0,3395	1,659	0,587	4,687
TNF-RI	> 1000	≤ 1000	0,5091	0,638	0,168	2,421
TNF-RII	> 3500	≤ 3500	0,2734	2,130	0,550	8,247
sIL-4R	< 1000	≥ 1000	0,0044	4,577	1,605	13,048
Behandlung	untherapiert	IFN-beta	0,2965	1,946	0,557	6,795
logistische Regression der Inzidenzen grippaler Symptome (N=53)						
Parameter	0	1	p-Wert	odds ratio	95 %-Konfidenzintervall	
					unten	oben
Intercept			0,0350			
Geschlecht	männlich	weiblich	0,1819	3,485	0,557	21,793
Alter bei Erstdiagnose	≤ 30 Jahre	> 30 Jahre	0,4502	1,774	0,401	7,852
Verlaufsform der MS	RRMS	SPMS	0,6250	1,747	0,187	16,345
Anzahl der Schübe in den letzten zwei Jahren	1 Schub	> 1 Schub				
			0,4236	2,222	0,314	15,706
EDSS an Visite 0	≤ 2,0	> 2,0	0,3259	2,314	0,434	12,338
sICAM-1	> 500	≤ 500	0,3140	2,065	0,503	8,473
sVCAM-1	< 1000	≥ 1000	0,9702	1,030	0,215	4,930
TNF-beta	< 40	≥ 40	0,2124	2,523	0,589	10,806
TNF-RI	> 1000	≤ 1000	0,3678	0,393	0,051	3,004
TNF-RII	> 3500	≤ 3500	0,3733	2,615	0,315	21,709
sIL-4R	< 1000	≥ 1000	0,6788	0,730	0,164	3,242
Behandlung	untherapiert	IFN-beta	0,2809	2,520	0,470	13,515
logistische Regression der Responderraten (N=88)						
Parameter	0	1	p-Wert	odds ratio	95 %-Konfidenzintervall	
					unten	oben
Intercept			0,0482			
Geschlecht	männlich	weiblich	0,6563	1,321	0,387	4,505
Alter bei Erstdiagnose	≤ 30 Jahre	> 30 Jahre	0,0011	0,120	0,034	0,430
Verlaufsform der MS	RRMS	SPMS	0,6573	0,683	0,126	3,689
Anzahl der Schübe in den letzten zwei Jahren	1 Schub	> 1 Schub				
			0,5832	1,398	0,424	4,610
EDSS an Visite 0	≤ 2,0	> 2,0	0,9652	0,968	0,226	4,141
sICAM-1	> 500	≤ 500	0,6511	1,318	0,399	4,356
sVCAM-1	< 1000	≥ 1000	0,0895	0,333	0,094	1,185
TNF-beta	< 40	≥ 40	0,2968	0,547	0,177	1,698
TNF-RI	> 1000	≤ 1000	0,9148	1,089	0,230	5,157
TNF-RII	> 3500	≤ 3500	0,7355	0,772	0,171	3,475
sIL-4R	< 1000	≥ 1000	0,0231	0,265	0,084	0,834
Behandlung	untherapiert	IFN-beta	0,1864	2,569	0,634	10,411

Protokolle zur Durchführung der ELISA

Testprotokolle der ELISA

Herstellung der Testlösungen:

Lösung 0 (Coating Buffer A):

8,0g NaCl
1,42g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$
0,2g KH_2PO_4
0,2g KCl
in 1000ml Aqua dest.

Lösung 1 (Blocking Solution):

0,5g BSA (bovines serum albumin (fraction 5))
in 100ml Lösung 0

Lösung 2 (Assay Buffer A):

0,5g BSA (bovines serum albumin (fraction 5))
0,1ml Tween 20
in 100ml Lösung 0

Lösung 3 (Assay Buffer B):

1g BSA (bovines serum albumin (fraction 5))
0,1ml Tween 20
in 100ml Lösung 0

Wasch Buffer:

1ml Tween 20
in 1000ml Lösung 0

Stop Solution 1:

5,6ml H_2SO_4 95-98%
in 100ml Aqua dest.

Stop Solution 2:

10ml H_2SO_4 95-98%
in 80ml Aqua dest.

Protokoll zur Durchführung des sTNF-RI und des sTNF-RII

Verdünnung des Coating Antibody (AB) auf eine Konzentration von 1,0µg/ml mit Lösung 0.

Zum Beschichten der Mikrotiterplatte wird jeweils 100µl dieser hergestellten Lösung in alle Vertiefungen (Wells) der Platte pipettieren. Abgedeckte Platte 12-18 Std. bei 2-8°C inkubieren lassen.

Restliche Lösung aus der Platte entfernen. Automatisiertes Waschen der Platte mit 300µl Wasch Buffer und wiederholen des Waschvorgangs viermal. Vorsichtiges Abklopfen der noch verbliebenen Flüssigkeit.

Pipettieren von 300µl Lösung 1 in jedes Well. Für zwei Std. abgedeckt bei Raumtemperatur inkubieren lassen.

Lyophilisierten Standard in Lösung 3 zu einer Konzentration von 10000pg/ml aufnehmen. Weitere Verdünnung für die Standard Verdünnungsreihe in fetalem Kälberserum (FKS) zu Konzentrationen von 1600pg/ml; 800pg/ml; 320pg/ml; 128pg/ml; 51,2pg/ml; 20,5pg/ml und 8,2 pg/ml. Als Nullwert (Blank) dient das FKS.

Kontrolle, laut vial- Beschriftung, in Aqua dest. aufnehmen.

Verdünnung der Kontrollen von sTNF-RI ($c = 2,2 \pm 0,4 \text{ ng/ml}$) 1:4 und sTNF-RII ($c = 4,5 \pm 0,9 \text{ ng/ml}$ und $c = 5,1 \pm 1,02 \text{ ng/ml}$) 1:10 mit Lösung 2.

Verdünnung des Pools für s-TNF-RI im Verhältnis 1:4, für s-TNF-RII im Verhältnis 1:15 und der Proben beider Rezeptoren im Verhältnis 1:4 jeweils in Lösung 2.

Wiederholen des oben beschriebenen Waschvorgangs.

In jedes Well jeweils 100µg der Standards mit Blank, der Kontrollen, des Pools und der Proben in Doppelbestimmung pipettieren.

Biotinylated detection AB ($c = 500 \mu\text{g/ml}$) im Verhältnis 1:1250 mit Lösung 2 verdünnen und je 50µl davon in jedes Well pipettieren.

Inkubation der abgedeckten Platte für 2 Std bei Raumtemperatur auf einem Rotator bei 400 rpm.

Wiederholung des oben beschriebenen Waschvorgangs.

Streptavidin-HRP ($c = 1 \text{ mg/ml}$) im Verhältnis 1:2500 mit Lösung 2 verdünnen und 100µl davon in jedes well geben.

Inkubation der abgedeckten Platte für 30 min bei Raumtemperatur auf einem Rotator bei 400 rpm.

Wiederholung des oben beschriebenen Waschvorgangs.

Tetramethylbenzidine (TMB)- Substrat I und II zu gleichen Teilen mischen und jeweils 100µl in jedes Well geben. Bei Dunkelheit auf einem Rotator bei Raumtemperatur ca.30 Min. inkubieren

lassen, so daß die Blauextinktion des größten Standards, mit dem Spektrometer (Fa. Molecular Devices, USA) bei 620nm und als Referenzfilter 450nm gemessen, 0,7 beträgt.

Pipettieren von 100µl Stop Solution 1 in jedes Well zum Beenden der Reaktion.

Automatisierte Messung der Extinktion mit dem Spektrometer (Fa. Molecular Devices, USA) bei 450nm und als Referenzfilter 620nm.

Protokoll zur Durchführung des s-TNF-beta

Verdünnung des coating AB (600µl c=100µl/ml) mit 9.4ml Lösung 0.

Zum Beschichten der Mikrotiterplatte wird jeweils 100µl dieser hergestellten Lösung in alle Vertiefungen (Wells) der Platte pipettieren. Abgedeckte Platte 12-18 Std bei 2-8°C inkubieren lassen.

Restliche Lösung aus der Platte entfernen. Automatisiertes Waschen der Platte mit 300µl Wasch Buffer und wiederholen des Waschvorgangs viermal. Vorsichtiges Abklopfen der noch verbliebenen Flüssigkeit.

Pipettieren von 250µl Lösung 2 in jedes Well. Für zwei Std. abgedeckt bei Raumtemperatur inkubieren lassen.

5µl des Standardproteins mit 495µl Lösung 2 zu einer Konzentration von 1000pg/ml verdünnen. Weitere Verdünnung für die Standardverdünnungsreihe in fetalem Kälberserum (FKS) zu Konzentrationen von 500pg/ml; 250pg/ml; 125pg/ml; 63pg/ml; 31pg/ml; 16pg/ml; und 8pg/ml. Als Nullwert (Blank) dient das FKS.

Wiederholung des oben beschriebenen Waschvorgangs.

In jedes Well jeweils 100µg der Standards mit Blank, des Pools und der Proben in Doppelbestimmung pipettieren.

HRP-conjugate im Verhältnis 1:1000 mit Lösung 2 verdünnen und jeweils 50µl davon in jedes Well pipettieren.

Inkubation der abgedeckten Platte für vier Std. bei Raumtemperatur auf einem Rotator bei 400rpm.

Wiederholung des oben beschriebenen Waschvorgangs.

Tetramethylbenzidine (TMB)- Substrat I und II zu gleichen Teilen mischen und jeweils 100µl in jedes Well geben. Bei Dunkelheit auf einem Rotator bei Raumtemperatur ca.45 Min. inkubieren lassen, so daß die Blauextinktion des größten Standards, mit dem Spektrometer (Fa. Molecular Devices, USA) bei 620nm und als Referenzfilter 450nm gemessen, 0,5 beträgt.

Pipettieren von 100µl Stop Solution 2 in jedes Well zum Beenden der Reaktion.

Automatisierte Messung der Extinktion mit dem Spektrometer (Fa. Molecular Devices, USA) bei 450nm und als Referenzfilter 620nm.

Protokoll zur Durchführung des sICAM-1

Verdünnung des Coating Antibody (AB) auf eine Konzentration von 10µg/ml mit Lösung 0.

Zum Beschichten der Mikrotiterplatte wird jeweils 100µl dieser hergestellten Lösung in alle Vertiefungen (Wells) der Platte pipettieren. Abgedeckte Platte 12-18 Std. bei 2-8°C inkubieren lassen.

Restliche Lösung aus der Platte entfernen. Automatisiertes Waschen der Platte mit 300µl Wasch Buffer und wiederholen des Waschvorgangs viermal. Vorsichtiges Abklopfen der noch verbliebenen Flüssigkeit.

Pipettieren von 250µl Lösung 2 in jedes Well. Für zwei Std. abgedeckt bei Raumtemperatur inkubieren lassen.

5µl des Standardproteins mit 495µl Lösung 2 zu einer Konzentration von 10ng/ml verdünnen. Weitere Verdünnung für die Standardverdünnungsreihe in Sample Diluent zu Konzentrationen von 5ng/ml; 2,5ng/ml; 1,25ng/ml und 0,63ng/ml. Als Nullwert (Blank) dient der Sample Diluent. Verdünnung des Pools und der Proben im Verhältnis 1:200 mit dem Sample Diluent.

Wiederholung des oben beschriebenen Waschvorgangs.

In jedes Well jeweils 100µg der Standards mit Blank, des Pools und der Proben in Doppelbestimmung pipettieren.

HRP-conjugate im Verhältnis 1:1000 mit Lösung 2 verdünnen und jeweils 50µl davon in jedes Well pipettieren. (nach den Neuen Kitts im Verhältnis 1.600)

Inkubation der abgedeckten Platte für zwei Std. bei Raumtemperatur auf einem Rotator bei 400rpm.

Wiederholung des oben beschriebenen Waschvorgangs.

Tetramethylbenzidine (TMB)- Substrat I und II zu gleichen Teilen mischen und jeweils 100µl in jedes Well geben. Bei Dunkelheit auf einem Rotator bei Raumtemperatur ca.15 Min. inkubieren lassen, so daß die Blauextinktion des größten Standards, mit dem Spektrometer (Fa. Molecular Devices, USA) bei 620nm und als Referenzfilter 450nm gemessen, 0,8 beträgt.

Pipettieren von 100µl Stop Solution 2 in jedes Well zum Beenden der Reaktion.

Automatisierte Messung der Extinktion mit dem Spektrometer (Fa. Molecular Devices, USA) bei 450nm und als Referenzfilter 620nm.

Protokoll zur Durchführung des sVCAM-1

Verdünnung des Coating Antibody (AB) auf eine Konzentration von 5µg/ml mit Lösung 0.

Zum Beschichten der Mikrotiterplatte wird jeweils 100µl dieser hergestellten Lösung in alle Vertiefungen (Wells) der Platte pipettieren. Abgedeckte Platte 12-18 Std. bei 2-8°C inkubieren lassen.

Restliche Lösung aus der Platte entfernen. Automatisiertes Waschen der Platte mit 300µl Wasch Buffer und wiederholen des Waschvorgangs viermal. Vorsichtiges Abklopfen der noch verbliebenen Flüssigkeit.

Pipettieren von 250µl Lösung 2 in jedes Well. Für zwei Std. abgedeckt bei Raumtemperatur inkubieren lassen.

25µl des Standardproteins mit 225µl Lösung 2 verdünnen zu einer Konzentration von 200ng/ml. Weitere Verdünnung für die Standardverdünnungsreihe in Lösung 2 zu Konzentrationen von 100ng/ml; 50ng/ml; 25ng/ml; 12,5ng/ml und 6,3ng/ml. Als Nullwert (Blank) dient die Lösung 2. Verdünnung des Pools im Verhältnis 1:50 und der Proben im Verhältnis 1:25 mit der Lösung 2. Wiederholung des oben beschriebenen Waschvorgangs.

In jedes Well jeweils 100µg der Standards mit Blank, des Pools und der Proben in Doppelbestimmung pipettieren.

Auflösung des Biotin-Conjugate im Verhältnis 1:10 mit Lösung 2.

Weitere Verdünnung des Biotin-Conjugate pro Titerplatte im Verhältnis 1:750 mit Lösung 2 und Streptavidin-HRP im Verhältnis 1:1250 mit Lösung 2.

Die zwei oben hergestellten Lösungen in gleichen Teilen mischen und jeweils 50µl davon in jedes Well pipettieren.

Inkubation der abgedeckten Platte für zwei Std. bei Raumtemperatur auf einem Rotator bei 400rpm.

Wiederholung des oben beschriebenen Waschvorgangs.

Tetramethylbenzidine (TMB)- Substrat I und II zu gleichen Teilen mischen und jeweils 100µl in jedes Well geben. Bei Dunkelheit auf einem Rotator bei Raumtemperatur ca.15 Min. inkubieren lassen, so daß die Blauextinktion des größten Standards, mit dem Spektrometer (Fa. Molecular Devices, USA) bei 620nm und als Referenzfilter 450nm gemessen, 0,6 beträgt.

Pipettieren von 100µl Stop Solution 2 in jedes Well zum Beenden der Reaktion.

Automatisierte Messung der Extinktion mit dem Spektrometer (Fa. Molecular Devices, USA) bei 450nm und als Referenzfilter 620nm.

Protokoll zur Durchführung der sIL-4R

Verdünnung des Standard buffer diluent 10fach mit Aqua dest.

Vollständiges Aufnehmen des Standards mit der auf dem Vial beschriebenen Menge an Standard buffer diluent zu einer Konzentration von 1000pg/ml.

Verdünnung des Washing Buffer 200fach mit Aqua dest.

Weitere Verdünnungen des gleichmäßig aufgelösten Standards in Standard buffer diluent zu Konzentrationen von 500pg/ml; 250pg/ml; 125pg/ml; 62,5pg/ml; und 31,25pg/ml. Als Nullwert (Blank) dient der Standard buffer diluent.

In jedes Well jeweils 100µg der Standards mit Blank, des Pools und der Proben in Doppelbestimmung pipettieren.

Verdünnung des Biotinylated Antibody (AB) mit Biotinylated Antibody Diluent im Verhältnis 1:27,5.

50µl des verdünnten Biotinylated AB in jedes Well pipettieren.

Platte abdecken und eine Std. bei Raumtemperatur inkubieren lassen.

Lösungen aus der Platte entfernen. Automatisiertes Waschen der Platte mit 300µl Wasch Buffer und wiederholen des Waschvorgangs dreimal. Vorsichtiges Abklopfen der noch verbliebenen Flüssigkeit.

Streptavidin-HRP (5µl vial) in 500µl HRP diluent aufnehmen. Weitere Verdünnungen im Verhältnis 1:67,7 durchführen.

100µl des Komplett verdünnten Streptavidin-HRP in jedes Well pipettieren.

Platte abdecken und 30 Min. bei Raumtemperatur inkubieren lassen.

Wiederholung des oben beschriebenen Waschvorgangs.

100µl des gebrauchsfertigen TMB in alle Wells geben und im Dunklen bei Raumtemperatur 12-15 Min. inkubieren lassen.

Reaktion mittels 100µl H₂SO₄ Stop reagent pro Well beenden.

Automatisierte Messung der Extinktion mit dem Spektrometer (Fa. Molecular Devices, USA) bei 450nm und als Referenzfilter 620nm.

Herstellernachweis

1 *ELISA-Test*

- | | | |
|-----|--|--|
| 1.1 | Human TNF-RI CytoSets™ und
Human TNF-RII CytoSets™ | BioSource Europe S.A.
Rue de l'Industrie 8
B1400 Nivelles, Belgium |
| 1.2 | human sICAM-1 Module Set,
human sVCAM-1 Module Set und
human TNF-beta Module Set | Bender MedSystems Diagnostic GmbH
Rennweg 95b
A-1030 Vienna, Austria |
| 1.3 | sIL-4R ELISA KIT | Diaclone Research
1, Bld Fleming
BP1985
F25000 Besancon |

2 *Lösungen und Chemikalien*

- | | | |
|-----|--|---|
| 2.1 | fetales Kälberserum FKS | Biochrom AG
Leonorenstraße 2-6
12247 Berlin |
| 2.2 | Sample Diluent No 1 | Bender MedSystems Diagnostic GmbH
Rennweg 95b
A-1030 Vienna, Austria |
| 2.3 | Tetramethyl Benzidine:
TMB
Peroxidase Substrate System | KPL Kirkegaard Perry Laboratories
2 Cessna Court, Gaithersburg
Maryland, 20879-4174 USA |
| 2.4 | Kontrollen für s-TNF-RI und
s-TNF-RII | Biosource Europe SA
B-1400, Nivelles
Belgium |
| 2.5 | Aqua dest. | Baxter Deutschland GmbH
D 85716 Unterschleißheim |
| 2.6 | NaCl | Carl Roth GmbH & Co
Schoemperlenstr. 1-5
D- 76185 Karlsruhe |
| 2.7 | Na ₂ HPO ₄ x2H ₂ O | Merk K Ga A
D-64271 Darmstadt |
| 2.8 | KH ₂ PO ₄ | Merk K Ga A
D-64271 Darmstadt |

2.9	KCl	Merk K Ga A D-64271 Darmstadt
2.10	H ₂ SO ₄	Merk K Ga A D-64271 Darmstadt
2.11	bovines Serumalbumin (BSA)	Merk K Ga A D-64271 Darmstadt
2.12	Tween20	Merk- Schuchardt D-85662 Hohenbrunn

3 *Geräte*

3.1	Microtiterplatte für (s-TNF-RI+II, TNF-beta, sICAM-1 und sVCAM-1): MaxiSorp™ Surface	Nunc A/S Kamstrupvej 90 DK-4000 Roskilde Denmark
3.2	Pipetten: Variopette-Eppendorf	Eppendorf Nethler- Hinz GmbH Im Borkhausenweg 1 22339 Hamburg
3.3	Probenröhrchen:	
a.	Nunc Cyro Tube™ Vials:	Nunc™ Brand Products Hagenauerstraße 21a 65203 Wiesbaden- Bieberich
b.	Cellstar PR-Röhrchen:	Greiner Labortechnik GmbH Maybachstraße 2 72636 Frickenhausen
3.4	Zentrifuge: Hettich Rotaxia/ RP:	Hettich Zentrifugen Gartenstraße 100 78532 Tuttlingen
3.5	Automatischer Wascher: Behring BEP II ELISA processor II	Dade Behring Vertriebs GmbH & Co Am Kronberger Hang 3 D-65824 Schwalbach
3.6	Mehrkanalspektrometer: Vmax kinetic microplate reader	Molecular Devices Gutenbergstr. 10 85737 Ismaning

3.7 Software:
ELISA-Programm

Medgenix Diagnostic
Biosource GmbH
Lise-Meitner Straße 4a
40878 Ratingen

3.8 Automatischer Shaker:
Easia Shaker

Medgenix Diagnostic
Biosource GmbH
Lise-Meitner Straße 4a
Ratingen

Abkürzungen

<	kleiner als
≤	kleiner gleich
>	größer als
≥	größer gleich
%	Prozent
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
Abb:	Abbildung
ADEM	akute dissiminierte Encephalomyelitis
AEP	akustisch evozierte Potentiale
Ag	Antigen
AIDS	Autoimmun deficite syndrom
Ak	Antikörper
APC	Antigen presenting cells
BHS	Blut-Hirn-Schranke
bzw.	beziehungsweise
ca.	zirka
CV	Variationskoeffizient (Coefficient of Variation)
EAE	Experimentelle Allergische Enzephalomyelitis
EDSS	Expanded Disability Status Scale nach Kurtzke
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
g	Gramm
Gd-DTPA	Gadolinium-diethylenetriamin-penta-acetic-acid
HLA	Humanes Leukozyten Antigen
HTLV-1	Humanes T-Zell Leukämie Virus-1
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
ICAM-1	interzelluläres Adhäsionsmolekül
IFN	Interferon
IFN-gamma	Interferon-gamma
IgG	Immunglobulin G
IL-1,-2,-4,-5,-10	Interleukin-1,-2,-4,-5,-10
Il-4R	Interleukin-4 Rezeptor
kD	Kilodalton

l	Liter
LFA-1	Leucocyte function antigen-1
MAG	Myelin-assoziiertes Glykoprotein
MBP	Myelin basisches Protein
mg	Milligramm
MHC	Major Histokompatibilität Komplex
Mio.	Millionen
MIU	million international units
ml	Milliliter
MMP	Matrixmetalloproteinase
MNC	Mononuclear cells
MOG	Myelin- Oligodendrozyten- Protein
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Multiple Sklerose
MSTKG	Multiple Sklerose Therapie Konsensus Gruppe
n	Anzahl
ng	Nanogramm
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
pg	Pikogramm
PPMS	primary progressive multiple sclerosis
r _s	Korrelationskoeffizient nach Spearman
rIFN beta-1a/-1b	rekombinantes Interferon beta-1a/-1b
RRMS	relapsing remitting multiple sclerosis
s	Standardabweichung
s. Anhang	siehe Anhang
s.c.	subkutan
SEP	(Tibialis und Medianus) somatosensibel evozierte Potentiale
sICAM-1	lösliches interzelluläres Adhäsionsmolekül-1
sIL-4R	löslicher Interleukin-4 Rezeptor
SMON	subakute Myeloptikusneuritis
sog.	sogenannte
SPMS	secondary progressive multiple sclerosis
sTNF-beta	löslicher Tumor Nekrose Faktor-beta
sTNF-RI	löslicher Tumor Nekrose Faktor Rezeptor-I
sTNF-RII	löslicher Tumor Nekrose Faktor Rezeptor-II
sVCAM-1	lösliches vaskuläres Adhäsionsmolekül-1
Tab.	Tabelle
TCR	T-Zell Rezeptor
TCS	transcranielle Magnetstimulation
TGF-beta	Transforming Growth Factor-beta
Th1-Zellen	T-Helfer-Zellen vom Typ 1
Th2-Zellen	T-Helfer-Zellen vom Typ 2
TNF-alpha/-beta	Tumor Nekrose Faktor-alpha/beta
TNF-R I / II	Tumor Nekrose Faktor Rezeptor I / II
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule
VEP	visuell evozierte Potentiale
VLA-4	Leukozyten Very Late Antigen-4
Vpn.	Versuchspersonen
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem

Lebenslauf

Persönliche Information

Familienname:	Frielinghaus
Vorname:	Pamela
Geburtstag:	02.05.1976
Geburtsort:	Remscheid- Lennep
Familienstand:	ledig
Staatsangehörigkeit:	deutsch

Schulausbildung

Grundschule:	1982-1986 Grundschule Remscheid Hasten
Gymnasium:	1986-1995 Gertrud- Bäumer- Gymnasium, Remscheid
	Abschluss Abitur Mai 1995

Hochschulstudium

01.10.1995- 31.03.2002	Studium der Humanmedizin an der Justus- Liebig- Universität Giessen
August 1997	Ärztliche Vorprüfung
August 1998	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
März 2001	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
Mai 2002	Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Praktisches Jahr

30.04.2001- 19.08.2001	Pädiatrie am Zentrum für Kinderheilkunde der Justus- Liebig- Universität Giessen
20.08.2001- 09.12.2001	Innere Medizin im Alaska Native Medical Center, Anchorage, Alaska, USA
10.12.2001- 31.03.2002	Allgemein- und Unfallchirurgie am Klinikum Wetzlar- Braunfels, Lehrkrankenhaus der Universität Giessen

Berufstätigkeit

14.10.2002- 14.04.2004	Arzt im Praktikum in der Kinderchirurgie am Evangelischem Krankenhaus Oberhausen, EKO Lehrkrankenhaus der Universität Essen
Seit dem 15.04.2004	Assistenzärztin in der Kinderchirurgie am Evangelischem Krankenhaus Oberhausen, EKO Lehrkrankenhaus der Universität Essen

Veröffentlichungen

Serum Cytokine levels do not correlate with disease activity and severity assessed by brain MRT in multiple sclerosis.

Acta Neurol Scand. 2002 Apr;105(4):300-8

Kraus J, Kuehne BS, Tofighi J, Frielinghaus P, Stolz E, Blaes F, Laske C, Engelhardt B, Traupe H, Kaps M, Oschmann P.

Cell surface bound and soluble adhesion molecules in CSF and blood in multiple sclerosis: correlation with MRI-measures of subclinical disease severity and activity.

J Neuroimmunol. 2002 Jan; 122(1-2):175-85

Kraus J, Engelhardt B, Chatzimanolis N, Bauer R, Tofighi J, Kuehne BS, Laske C, Stolz E, Frielinghaus P, Schaefer C, Blaes F, Traupe H, Kaps M, Oschmann P.

„ Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation „Zytokin und Adhäsionsmolekülveränderungen im Serum bei an Multiple Sklerose erkrankten Patienten (RRMS und SPMS) ohne und unter Therapie mit Interferon-beta 1a und 1b“ selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Gießen, im Februar 2005

Pamela Frielinghaus

Danksagung

Als Erstes möchte ich mich bei allen an Multiple Sklerose erkrankten Personen, die an dieser Studie teilgenommen haben, recht herzlich bedanken. Ohne ihre Kooperation wäre diese Studie nicht möglich gewesen.

Weiterhin danke ich meinem Doktorvater Priv.-Doz. Dr. P. Oschmann für die sehr interessante Thematik dieser Arbeit und der stets freundlichen und kompetenten Betreuung auch über eine größere Entfernungsdistanz.

Ein weiterer Dank geht an Sabina Kühne für die geduldige, biochemische und labortechnische Unterstützung sowie Kerstin Retzlaff für die freundschaftliche Kooperation.

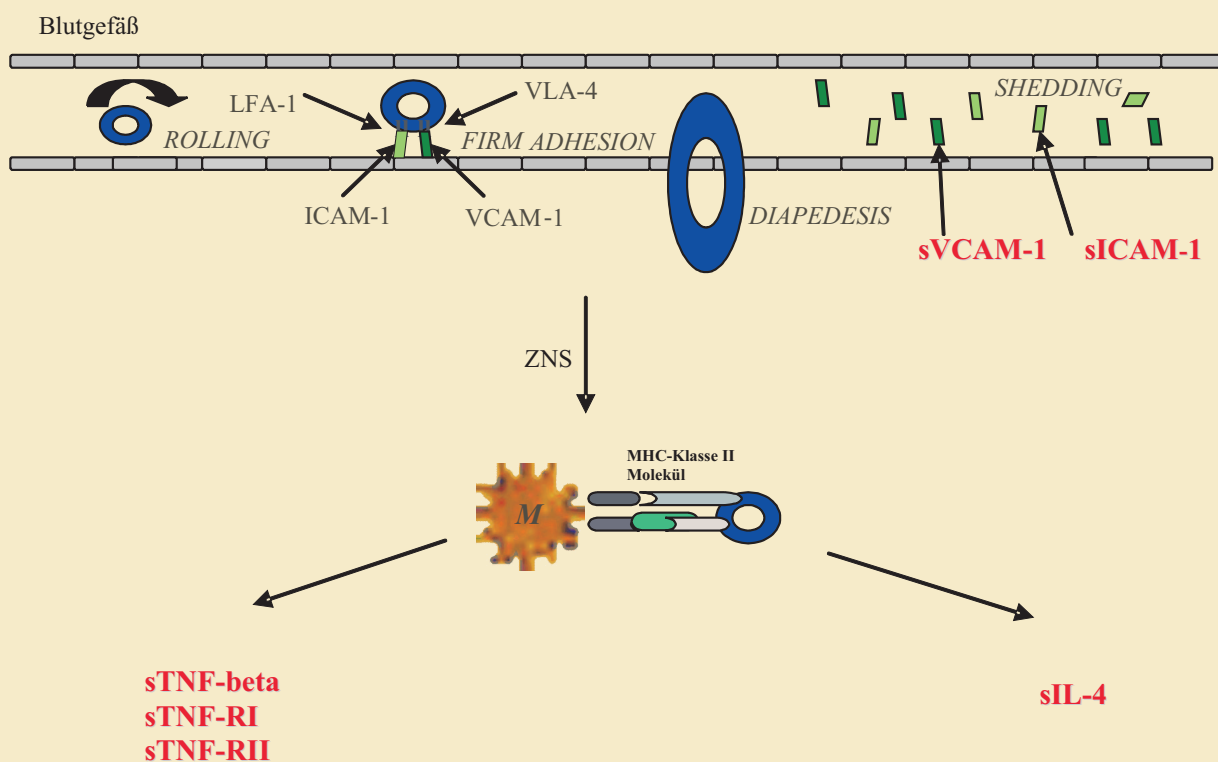
Niko Chatzimanolis, Jörg Kraus und Jasmin Tofighi danke ich für die kollegialen Tipps zu dieser Arbeit.

Ein ganz besonders herzlicher Dank gebührt dem Team des Liquorlabors der neurologischen Klinik der Justus-Liebig-Universität Giessen Cornelia Roth, Helga Weiser-Fichtner, Marita Holz, Edith Löffler und Ingeborg Berg für das stets angenehme und freundliche Arbeitsklima, die hervorragende praktische Unterstützung, die Geselligkeit und die zahlreichen angenehmen persönlichen Gespräche.

Weiterhin danke ich allen Ärzten und Pflegekräften für die Betreuung der Patienten.

Sabina Vogel danke ich für die sehr einfühlsame Mitbetreuung der Patienten.

Für die tatkräftige Unterstützung während meiner Doktorarbeit möchte ich mich bei meinen Eltern, meiner Schwester, Thomas Mielke und Irene Mielke von ganzem Herzen bedanken. Weiterhin danke ich meinen Großeltern für ihr anfeuerndes Verhalten, zügig mit der Arbeit voranzuschreiten.



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG ISBN 3-8359-5008-8
 GLEIBERGER WEG 4
 D-35435 WETTENBERG

Tel: +49-(0)6406-4413 Fax: -72757
 redaktion@doktorverlag.de
 www.doktorverlag.de

